



UNIVERSITÀ DI PISA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE

Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

Trattamento chirurgico dello shunt portosistemico
con tecnica del cellophane banding nel cane

Relatore:

Prof. Iacopo Vannozzi

Candidato:

Anna Paganini

Correlatore:

Dott. Viola Maria Innocenti

Anno Accademico 2013-2014

Alla mia mamma, la donna più forte

Che io abbia mai conosciuto;

Al mio papà, il mio grande

Esempio di vita . . .

INDICE

RIASSUNTO

INTRODUZIONE

CAPITOLO 1

pag. 7

EMBRIOLOGIA, ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL FEGATO

1.1 <u>Organogenesi</u>	pag. 8
1.2 <u>Anatomia</u>	pag. 11
1.2.1 Topografia, conformazione e rapporti	pag. 11
1.2.2 Mezzi di fissità	pag. 12
1.2.3 Lobatura	pag. 13
1.2.4 Struttura e lobulatura	pag. 14
1.2.5 Vasi linfatici e nervi	pag. 18
1.2.6 Sistema biliare	pag. 19
1.3 <u>Fisiologia</u>	pag. 20
1.3.1 Secrezione biliare	pag. 21
1.3.2 Metabolismo glicidico	pag. 23
1.3.3 Metabolismo lipidico	pag. 24
1.3.4 Metabolismo proteico	pag. 26
1.3.5 Metabolismo dei composti azotati non proteici	pag. 27
1.3.6 Detossificazione dell'organismo	pag. 28
1.4 <u>Vascolarizzazione</u>	pag. 28

CAPITOLO 2

pag. 31

SHUNT PORTOSISTEMICO: APPROCCIO CLINICO E DIAGNOSTICO

2.1 <u>Introduzione: anomalie vascolari del fegato</u>	pag. 32
2.1.1 PSS – Shunt portosistemico	pag. 32
2.1.2 PVH – Ipoplasia venosa portale	pag. 33
2.1.3 HAVM – Malformazione epatica artero-venosa	pag. 33
2.2 <u>Anatomia dello shunt</u>	pag. 34
2.3 <u>Segnalamento</u>	pag. 36

2.4 <u>Encefalopatia epatica</u>	pag. 36
2.5 <u>Anamnesi, segni clinici e sintomatologia</u>	pag. 40
2.6 <u>Diagnostica di laboratorio</u>	pag. 41
2.6.1 Ematologia	pag. 41
2.6.1.1 Esame emocromocitometrico	pag. 41
2.6.1.2 Profilo biochimico	pag. 42
2.6.1.3 Profilo coagulativo	pag. 42
2.6.1.4 Test di funzionalità epatica: SBA, UBA e ATT	pag. 42
2.6.2 Esame delle urine	pag. 46
2.7 <u>Diagnostica per immagini</u>	pag. 47
2.7.1 Indagine ecografica	pag. 47
2.7.2 Tomografia computerizzata	pag. 49
2.7.3 Altre indagini	pag. 50
2.8 <u>Istopatologia</u>	pag. 52

CAPITOLO 3

pag. 53

SHUNT PORTOSISTEMICO: APPROCCIO TERAPEUTICO

3.1 <u>Trattamento medico</u>	pag. 54
3.2 <u>Trattamento chirurgico</u>	pag. 58
3.2.1 Indicazioni per l'anestesia	pag. 58
3.2.2 Tecniche chirurgiche	pag. 59
3.2.2.1 Legatura con filo da sutura	pag. 60
3.2.2.2 Occlusore idraulico	pag. 61
3.2.2.3 Costrittore ameroide	pag. 62
3.2.2.4 Spirali trombogeniche	pag. 64
3.2.2.5 Cellophane bands	pag. 66
3.2.5 Complicazioni postoperatorie	pag. 68
3.2.6 Trattamento postoperatorio	pag. 70
3.2.7 Prognosi	pag. 70

CAPITOLO 4

pag. 73

CASISTICA PERSONALE

4.1 <u>Materiali e metodi</u>	pag. 74
4.2 <u>Risultati</u>	pag. 82
4.3 <u>Discussione dei risultati</u>	pag. 88

CAPITOLO 5

pag. 90

CONCLUSIONI

BIBLIOGRAFIA

pag. 93

RINGRAZIAMENTI

pag. 103

Riassunto

Obiettivo: l'intento di questo lavoro è stato quello di valutare la possibilità di ricorrere alla tecnica del cellophane banding nei cani con shunt portosistemico intraepatico e di confrontare, con l'ausilio delle metodiche di laboratorio e di diagnostica per immagine pre- e post-operatorie, l'efficacia del trattamento chirurgico nei due gruppi.

Materiali e Metodi: per questo studio sono stati arruolati 20 cani (12 femmine e 8 maschi), di varie razze ed età (età media alla diagnosi di 22,6 mesi, range 3 mesi- 6 anni), di cui 16 affetti da shunt portosistemico congenito extraepatico e 4 affetti da shunt intraepatico. Tali soggetti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico correttivo di cellophane banding e sono stati successivamente valutati ad un follow up di 6-8 settimane e 4 mesi dalla chirurgia con esame clinico, esami ematochimici e, quando possibile con ecografia e/o TC.

Risultati: A fine studio il tasso di mortalità è stato del 5% nel gruppo di pazienti affetti da PSS extraepatico mentre nessun decesso è stato osservato nel gruppo PSS intraepatico.

Nei pazienti con shunt extraepatico già a 6-8 settimane dalla chirurgia vi è stato un significativo miglioramento clinico, strumentale e del profilo bioumorale. Nel braccio di studio comprendente pazienti con shunt intraepatico i benefici bioumoralmente attesi si sono resi evidenti solo alla 16^a settimana di follow up.

Discussioni e conclusioni: Nonostante le ridotte dimensioni del campione che ha verosimilmente limitato la potenza statistica dello studio, il nostro lavoro non solo ha confermato i risultati favorevoli derivanti dal trattamento chirurgico del PSS extraepatico con tecnica del cellophane banding, bensì ha evidenziato come tali outcome possano essere ottenuti con la stessa tecnica chirurgica anche nel trattamento di alcuni degli shunt intraepatici. Il mancato beneficio bioumorale osservato a 6-8 settimane post correzione di PSS intraepatico è verosimilmente legato alla tecnica chirurgica e al maggior calibro del vaso anomalo.

Parole chiave: fegato, shunt, extraepatico, intraepatico, cellophane.

Abstract

Objective: the aim of this study was to evaluate the possibility of applying the cellophane banding technique in dogs with intrahepatic portosystemic shunt and to compare, taking into account pre and postoperative lab tests and ultrasound and computed tomographic imaging, the efficacy of the surgical treatment in the two groups.

Material and Methods: for this study 20 dogs (12 females and 8 males) of various breeds and age (median age at the diagnosis 22,6 months, range 3 months-6 years), 16 affected by congenital extrahepatic portosystemic shunt and 4 by intrahepatic shunt were enrolled. These subjects underwent corrective surgical treatment with cellophane banding and were subsequently evaluated at 6-8 weeks and 4 months of post surgical follow up with clinical exam, lab tests and when it was possible control ultrasound/CT exam.

Results: At the end of the study the death rate was 5% in the group of patients with extrahepatic PSS while no deaths were observed in the group with intrahepatic PSS. In patients with extrahepatic shunts already at 6-8 weeks after surgery there was a significant clinical, instrumental and biohumoral improvement. In the arm including patients with intrahepatic shunt the expected biohumoral improvement was evident only at the 16th week of follow-up.

Discussion and Conclusion: Despite the small size of the sample that has probably limited the statistical power of the study, our work has not only confirmed the favorable results derived from the treatment of the extrahepatic portosystemic shunt with the surgical technique of cellophane banding, but it has also highlighted how these outcomes can be achieved with the same surgical technique in the treatment of some of the intrahepatic shunt. The lack of biohumoral benefit observed at 6-8 weeks after correction of intrahepatic PSS is probably due to the surgical technique itself and to the larger caliber of the vessel abnormally.

Key words: liver, shunt, intrahepatic, extrahepatic, cellophane.

INTRODUZIONE

Lo shunt portosistemico (PSS) intra- od extra-epatico (a seconda della sua posizione rispetto al fegato) è una malformazione vascolare congenita o acquisita che coinvolge la vascolarizzazione addominale. In condizioni fisiologiche il sangue refluo dall'apparato gastroenterico viene convogliato nella vena porta e quindi nel fegato dove tossine e prodotti di degradazione provenienti dal digerente vengono metabolizzati. Il sangue giunge poi nel circolo venoso sistemico tramite la vena cava caudale.

In presenza di uno PSS il sangue refluo dal digerente bypassa il fegato e si porta direttamente dalla vena porta alla vena cava caudale facendo in modo che i metaboliti e le sostanze tossiche permangano in circolo determinando sintomi a carico del sistema nervoso centrale, dell'apparato urinario e del sistema gastroenterico stesso.

Dal punto di vista epidemiologico si osserva una maggior prevalenza degli shunt extraepatici nei cani di piccola taglia mentre gli shunt intraepatici si rilevano con maggiore frequenza nelle razze grandi/giganti.

La terapia dello shunt è sostanzialmente medica supportiva e correttiva di tipo chirurgico. Quest'ultima consiste nell'occlusione progressiva nel tempo del vaso anomalo con varie metodiche (filo di seta, anello ameroide, occlusore idraulico, cellophane, coil).

L'intento del nostro studio è quello di valutare e confrontare i risultati della chirurgia correttiva con tecnica del cellophane banding nel trattamento dello shunt portosistemico congenito intra- ed extra-epatico.

A tale scopo abbiamo selezionato una popolazione di 20 cani (16 affetti da shunt extraepatico e 4 con shunt intraepatico) in cura presso il Centro Veterinario Pisani-

Carli-Chiodo e presso l'Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" dell'Università degli Studi di Pisa che abbiamo poi sottoposto alla procedura.

I pazienti sono stati rivalutati ad un follow up di 6-8 settimane e 4 mesi dalla chirurgia con esame clinico completo, ecografia e/o TC di controllo ed esami di laboratorio.

CAPITOLO 1

ANATOMIA E FISIOLOGIA **DEL FEGATO**

Il fegato è uno degli organi più voluminosi dell'organismo: nei cani e nei gatti adulti, il suo peso raggiunge circa il 3,5% di quello totale corporeo, mentre nei soggetti in fase di crescita è pari al 5%. È una ghiandola annessa al tubo digerente, dal quale deriva embriologicamente, ed espleta molteplici e complesse funzioni quali: elaborazione metabolica delle principali categorie di nutrienti (carboidrati, proteine e lipidi) dopo il loro assorbimento; detossificazione e degradazione di scorie, farmaci, ormoni e sostanze estranee; sintesi di proteine plasmatiche, comprese quelle necessarie per la coagulazione del sangue e quelle che trasportano steroidi, ormoni tiroidei e colesterolo; deposito di glicogeno, grassi, ferro, rame e molte vitamine; esterificazione di acidi grassi liberi a trigliceridi; sintesi di acido ascorbico; attivazione della vitamina D, che il fegato realizza in collaborazione con il rene; eliminazione di batteri e globuli rossi danneggiati grazie all'azione dei suoi macrofagi residenti e metabolismo dell'emoglobina; e infine emopoiesi nell'embrione e, potenzialmente, anche nell'adulto.

1.1 Organogenesi

Il primo abbozzo del fegato origina dalla faccia ventrale del duodeno ed è rappresentato dal diverticolo epatico, che si approfonda rapidamente andando a formare delle gemme nel setto trasverso, cioè la massa di tessuto mesodermico che si sviluppa lungo il percorso delle vene vitelline, dall'ombelico al cuore. La proliferazione epatica rende il setto trasverso ispessito ed esteso, ad eccezione della sua parte craniale, dove migrano i mioblasti destinati alla formazione del diaframma. Ognuno di questi due abbozzi prosegue la sua espansione in maniera indipendente, in modo che il fegato, aumentando di volume, si separa in gran parte dal diaframma, a causa dello sviluppo di diverticoli del celoma tra i due organi, che si allargano mentre il fegato prende forma rispettando però la zona di aderenza primitiva (area nuda) e lasciando persistere dei robusti mesi epato-frenici, di cui i più cospicui sono al servizio del sistema venoso.

La gemmazione dell'abbozzo epatico produce numerosi cordoni epiteliali, precursori di lamine e lobuli epatici. Contemporaneamente, le vene vitelline, di cui la destra ha assunto maggiore sviluppo, si dividono ed emettono dei capillari che si insinuano tra i cordoni. Si sviluppa in questo modo una rete sanguigna ricca che irrori i cordoni per formare il parenchima epatico.

In particolare, la vena vitellina di destra si divide in due segmenti, uno sopraepatico e l'altro intraepatico. Il primo darà origine alle vene efferenti del fegato e al segmento terminale, toracico, della vena cava caudale. Il secondo si anetterà, attraverso anastomosi, alla vena vitellina di sinistra andando a costituire il primordio della vena porta; si unisce inoltre alla vena ombelicale sinistra. Oltre a ramificarsi, dà origine ad un'importante derivazione che si porta verso il segmento sopraepatico della vena cava caudale in via di formazione: il ductus venosus o canale di Aranzio, che persiste per tutta la vita fetale permettendo al sangue refluo della placenta di by-passare il fegato e che, in vita neonatale, si oblitera diventando un cordoncino legamentoso.

Tra il segmento sopraepatico della vena vitellina e il segmento lombare della vena caudale destra si sviluppa un'anastomosi che partecipa alla formazione della vena cava caudale, la quale passa perciò tra il diaframma e il fegato, sul quale si imprime. Superate queste tappe principali, l'organo riceve, sulla faccia viscerale, la vena porta e la vena ombelicale (sostituita dopo la nascita dalla vena porta), mentre la faccia diaframmatica dà passaggio alla vena cava caudale nella quale sboccano le vene epatiche.

Tutte le vene menzionate sono sostenute da mesi, che concorrono alla fissazione del fegato. Derivano dal mesogastrio ventrale, imponente lamina mesoblastica mediana che si sviluppa con il diverticolo epatico del duodeno e che unisce il margine ventrale dello stomaco e l'inizio del duodeno al setto trasverso. La differenziazione di fegato e diaframma divide questo primitivo meso in tre piani: uno situato cranialmente al diaframma e che entrerà a far parte del mediastino, uno sopraepatico e uno infraepatico.

Il piano sopraepatico rimane mediano e unisce il fegato al diaframma: l'area nuda

viene perciò invasa e rimodellata dallo sviluppo del segmento corrispondente della vena cava caudale con la formazione del legamento coronario, in continuità con il mesentere dorsale, sul margine dorsale del forame epipoico. Da ciascun lato di questo legamento origina inoltre un legamento triangolare, costituito da una piega peritoneale secondaria, trascinata dall'accrescimento del corrispondente lobo laterale del fegato.

Il piano infraepatico del mesogastrio ventrale, esteso tra fegato, piccola curvatura dello stomaco e inizio del duodeno, costituisce il piccolo omento, nel quale decorrono la vena porta, l'arteria epatica, e il condotto coledoco.

Infine, il meso della vena ombelicale, che si estende dall'ombelico al fegato e che è unito al legamento coronario, persisterà dopo la regressione di questa diventando il legamento falciforme.

Dagli elementi mesenchimali che migrano nel fegato si formano cellule che proliferando vanno a costituire gli elementi cellulari del sangue (leucociti ed emazie).

Il fegato ha inizialmente posizione mediana, poi nel corso del suo sviluppo si determina un'asimmetria per ipertrofia della sua porzione destra e minore sviluppo di quella sinistra. L'accrescimento del fegato nel periodo embrionale e fetale è notevole, ed alla nascita esso occupa una parte cospicua della cavità addominale; solo dopo subisce una riduzione del suo volume. Questo è collegato al ruolo che l'organo svolge nella circolazione fetale e alla sua funzione emopoietica. (Pelagalli - Castaldo)

Il condotto coledoco rappresenta il peduncolo dell'abbozzo epatico, di cui mantiene la connessione con il duodeno ed invia una gemma caudale che si peduncolizza e si rigonfia ulteriormente, formando la cistifellea.

1.2 Anatomia

1.2.1 TOPOGRAFIA, CONFORMAZIONE E RAPPORTI

Il fegato presenta un accrescimento asimmetrico, in relazione con la rotazione che sposta lo stomaco dal lato sinistro; risulta perciò disposto a destra del piano mediano sulla faccia addominale del diaframma ed occupa l'ipocondrio destro, l'epigastrio e, parzialmente, l'ipocondrio sinistro. Nei cani rimane interamente dentro la cassa toracica e perciò, di norma, non è palpabile. Nelle razze brachicefae, con torace ampio e diaframma più appiattito, qualsiasi ingrossamento fa sì che si possa palpare; di contro nelle razze con torace profondo, il fegato può farsi palpabile solo dietro l'ultima costa, quando è marcatamente aumentato di volume. Nei gatti sani l'organo può essere generalmente palpato.

Nel fegato si riconoscono due facce, una diaframmatica e l'altra viscerale, separate da un margine dorsale e da uno ventrale, che sono in continuazione mediante due margini laterali.

La faccia diaframmatica, convessa e liscia, è rivestita dal peritoneo, ad eccezione di una piccola area nuda vicina al suo centro, sprovvista di sierosa, dove quindi il fegato aderisce direttamente al diaframma. È incisa da una profonda e larga doccia che segna il passaggio della vena cava caudale, solco situato leggermente a destra del piano mediano che si estende dal margine dorsale fino al centro della faccia diaframmatica. I suoi margini danno attacco alle lamine peritoneali che costituiscono il legamento coronario e che si allontanano per delimitare l'area nuda. L'organo è fissato al diaframma soprattutto tramite il legamento triangolare sinistro; infatti, quello destro è di dimensioni minori e garantisce un sostegno meno valido.

La faccia viscerale è concava, irregolare e rivolta caudo-ventralmente e verso sinistra e prende contatto con lo stomaco, il pancreas, il duodeno, e il rene destro. Nella sua parte media si trova la porta del fegato o ilo epatico, zona che dà passaggio all'arteria epatica, alla vena porta ed ai nervi che penetrano

nell'organo; nonchè al dotto epatico ed ai linfatici che ne fuoriescono, e sui cui margini prende attacco il piccolo omento. La sua estremità ventrale si prolunga, più o meno nettamente, soprattutto nei soggetti giovani, mediante il solco che accoglieva la vena ombelicale, cioè la fessura del legamento rotondo. Ventralmente e a destra della porta del fegato è invece presente la fossa della cistifellea, depressione profonda che si prolunga fino al margine ventrale dell'organo. Sono inoltre presenti le impronte degli organi con cui prende contatto: l'impronta gastrica, che occupa la parte sinistra del fegato, l'impronta duodenale, a destra dell'ilo epatico e l'impronta renale sul margine dorsale dell'organo.

Il margine dorsale è ispessito ed irregolare; ha direzione obliqua ventralmente e a sinistra (come l'asse dell'organo) ed è strettamente fissato al diaframma. Da destra a sinistra presenta: l'inserzione del legamento triangolare destro, l'impronta del rene destro sul margine del lobo caudato, il solco della vena cava caudale, che si prolunga sulla faccia diaframmatica, l'impronta esofagea ed infine l'inserzione del legamento triangolare sinistro.

Il margine ventrale è libero e sottile con aspetto tagliente e frastagliato a causa delle profonde incisure interlobari.

I margini destro e sinistro sono invece sottili e arrotondati ed appartengono ciascuno al lobo laterale corrispondente.

1.2.2 MEZZI DI FISSITA'

Il fegato risulta mantenuto in situ soprattutto da numerosi legamenti, formati dal peritoneo, i principali dei quali portano i vasi.

Il legamento coronario lo unisce al diaframma e accoglie la vena cava caudale. È costituito da due serie di fasci fibrosi a partenza dai margini del solco della vena cava, il tutto ricoperto dal peritoneo. I foglietti peritoneali del legamento coronario sono in continuità con quelli di altri legamenti epatici: ventralmente si continuano nel legamento falciforme; a destra e a sinistra, a livello del margine dorsale, si

continuano nei legamenti triangolari.

Il legamento falciforme è una lamina sierosa mediana, che si estende dalle vicinanze dell'ombelico all'orificio della vena cava del diaframma. Il suo margine parietale prende attacco sulla faccia interna della linea alba, poi sulla parte sternale del diaframma e sul centro frenico. Il margine opposto si divide in una parte breve, sulla faccia diaframmatica del fegato, e si estende dal solco della vena cava al legamento rotondo; e una parte lunga che è libera e va dal fegato alla regione ombelicale. Nella sua parte caudale, perciò, non si ancora direttamente al fegato, ma forma un cuscinetto di grasso che funge da utile contrasto radiografico nei confronti della superficie diaframmatica del fegato.

Il legamento triangolare sinistro è un'estensione della faccia corrispondente del legamento coronario, a livello del quale si unisce anche al rivestimento sieroso dell'esofago e al piccolo omento. L'altro margine prende inserzione sul versante craniale della parte sinistra del margine dorsale del fegato e sulla parte adiacente del margine sinistro.

Il legamento triangolare destro è paragonabile al precedente, ma molto più preve e in posizione più dorsale. Prende inserzione sul pilastro destro del diaframma e termina sul margine dorsale del lobo destro del fegato, in continuità con la faccia corrispondente del legamento coronario.

Il legamento epato-renale è una piccola piega che sostiene il lobo caudato e che si porta fino al polo craniale del rene destro.

1.2.3 LOBATURA

Nel cane e nel gatto, a differenza di altre specie, i lobi epatici sono singolarmente ben riconoscibili; le fessure interlobari sono particolarmente profonde, in modo da poter compiere ampie e frequenti escursioni causate da respirazione e movimenti diaframmatici, forti variazioni di volume dello stomaco e rachide lombare molto flessibile e mobile. Nei carnivori, infatti, i vari lobi sono sostenuti da peduncoli abbastanza stretti da permettere loro di scivolare facilmente gli uni sugli altri.

La parte situata a sinistra della fessura del legamento rotondo costituisce il lobo sinistro, suddiviso da una profonda scissura in lobo sinistro mediale e lobo sinistro laterale. Quest'ultimo comprende il 30-40% dell'intera massa epatica, costituisce perciò il lobo più grande e più mobile. Inoltre, poichè la sua parte periferica non è interessata da strutture critiche, quali ad esempio grosse vene, arterie o dotti biliari, risulta essere un comodo e sicuro sito di prelievo biotico.

La porzione a destra della fossa della cistifellea è rappresentata dal lobo destro, similmente diviso in lobo destro mediale e lobo destro laterale.

Infine, la parte intermedia è a sua volta suddivisa in due piani dalla porta del fegato: ventralmente si estende il lobo quadrato, dorsalmente il lobo caudato, a sua volta suddiviso dall'incisura della vena cava caudale, in un processo caudato, unito al lobo destro, e in un processo papillare, sinistro.

Riassunto quindi, il fegato dei carnivori è composto da sei lobi e tre zone. I lobi laterale sinistro e mediale sinistro e costituiscono la zona sinistra; i lobi mediale destro e quadrato, disposti ai due lati della cistifellea, formano la zona intermedia; i lobi destro laterale e caudato compongono la zona destra.

1.2.4 STRUTTURA E LOBULATURA

Il fegato è ricoperto da due involucri sovrapposti, uno superficiale costituito dalla sierosa peritoneale che lo riveste per tutta la sua estensione, fatta eccezione per l'area nuda, ed uno profondo, la tonaca propria di natura connettivale, che lo avvolge completamente.

Il peritoneo, come precedentemente ricordato, dà origine ad alcune duplicature costituenti i legamenti, che prendono rapporto con diaframma e organi vicini, e che contribuiscono, insieme con la vena cava e la pressione endoaddominale, ad assicurarne la fissità.

La tonaca propria, resistente, sottile e intimamente adesa al parenchima, penetra a livello dell'ilo, nell'interno dell'organo ed accompagna, assottigliandosi

progressivamente, i vasi sanguigni e linfatici, i dotti biliari ed i nervi nelle loro rispettive ramificazioni fino a portarsi negli spazi interlobulari a delimitare i lobuli. Questo sistema di guaine aderisce al parenchima mediante la sua faccia esterna, mentre con la faccia interna dà sostegno al connettivo lasso che avvolge i condotti e costituisce la capsula fibrosa perivascolare, chiamata anche capsula di Glisson.

L'organo è costituito da un gran numero di lobuli, ciascuno riportabile ad una piramide di circa 2 mm di altezza e 1 mm di larghezza e costituito da cellule epatiche, capillari sanguigni, vena centrale, capillari biliari e lo stroma connettivale di sostegno. È infatti percorso, in senso assiale, da una grossa vena centrale o centrolobulare, che esce dalla base del lobulo e che costituisce una delle prime radici delle vene epatiche, che terminano nella vena cava caudale.

Altri vasi sono situati alla periferia del lobulo, il quale viene circondato dalle loro ramificazioni. I più voluminosi sono situati nel punto di incontro di più lobuli: a questo livello si trovano spazi connettivali che, nelle sezioni, si presentano di forma stellata (generalmente a tre bracci perchè separano tre lobuli), denominati spazi porto-biliari o spazi portali o di Kiernan, nei quali decorrono tre condotti costituenti una triade epatica. Ogni triade comprende: un ramo terminale della vena porta, che forma una vena interlobulare; un ramo dell'arteria epatica, l'arteria interlobulare; e un condotto biliare interlobulare. Ciascuno di questi tre condotti emette o riceve dei sottili rami perilobulari, che costituiscono una rete tra i lobuli.

Tra la rete vascolare periferica e la vena centrale, le cellule epatiche sono disposte a formare le lamine epatiche, delle travate radiate e monostratificate che, contraendo tra loro numerose anastomosi, formano una struttura a reticolo.

Negli spazi delimitati dalle filiere di epatociti e intervallati con esse, decorrono i capillari di tipo sinusoidale, derivanti dalle più fini ramificazioni terminali della vena porta e, in numero molto più ridotto, da quelle dell'arteria epatica e che si portano dai vasi sanguigni perilobulari e interlobulari alla vena centrale.

I capillari sinusoidi hanno un diametro di che varia da 5 a 15 μm , sono privi di membrana basale e, tra le loro cellule endoteliali, sono presenti fessure di

diametro inferiore ad 1 μm . L'assenza della membrana basale ed i pori esistenti tra le cellule rendono oltremodo intensi gli scambi tra sangue ed epatociti. Nel lume, sono inoltre presenti le cellule stellate di Kupffer, macrofagi epatici che costituiscono un contingente importante del sistema reticolo-istiocitario, dotate di attività fagocitaria e cromopessia. In particolare: rimuovono per fagocitosi detriti presenti nel sangue, processano gli antigeni e li presentano ai linfociti che in caso di flogosi migrano al fegato, coadiuvano nell'eritrocateresi di eritrociti invecchiati o danneggiati tramite fagocitosi (e successivo metabolismo dell'emoglobina), stimolano gli epatociti a produrre fibrinogeno ed inibiscono la sintesi di citocromo P450 e albumina e inducono la proliferazione di fibroblasti e cellule di Ito.

Ciascun epatocita, dotato di numerosi microvilli, ha almeno una delle facce orientata verso il sinusoidale, dal cui endotelio risulta separato da una sottilissima fessura: lo spazio perisinusoidale di Disse. Qui sono presenti anche le cellule di Ito o cellule stellate perisinusoidali o fat-storing cells, cellule mesenchimali con lunghi processi citoplasmatici che avvolgono il sinusoidale e sede di metabolismo e deposito di lipidi e vitamina A. Sono deputate allo svolgimento di diverse funzioni: sintetizzano matrice extracellulare, cioè collagene prevalentemente di tipo 1 e sono perciò coinvolte nella fibrogenesi epatica, regolano il flusso ematico nei capillari sinusoidi e il calibro dei canalicoli biliari grazie alla contrattilità di cui sono dotati i loro prolungamenti, sono coinvolte, insieme a fibroblasti, nei processi di fibrosi del fegato, cioè dallo stato quiescente si attivano trasformandosi in miofibroblasti, ovvero cellule con caratteristiche intermedie tra fibroblasti e cellule muscolari lisce, con contemporanea diminuzione del loro contenuto in vitamina A. In una delle facce della cellula epatica è scavata una sottile doccia che, con quella presente sulla faccia contigua di un'altra cellula, deimita un capillare biliare; tratto iniziale delle vie biliari. Sono privi di parete propria e con un diametro di circa 0,5-1 μm circa, decorrono tra gli epatociti e raggiungono i colangioli o passaggi di Hering, i più piccoli condotti biliferi posti alla periferia del lobulo dotati di una sottile parete monostratificata, che fanno capo, a loro volta, ai dotti interlobulari negli spazi porto-biliari. Più precisamente, la parete dei capillari biliari è costituita

da una specializzazione locale della membrana plasmatica di due cellule epatiche adiacenti. A livello dello spazio canalicolare, infatti, le membrane plasmatiche sono dotate di brevi microvili che sporgono nel lume e di sistemi giunzionali che chiudono le connessioni del canalicolo ed impediscono qualsiasi comunicazione tra il canale stesso e gli spazi che accolgono i capillari sinusoidi.

Seguendo un diverso concetto di suddivisione del parenchima epatico, per la difficoltà di identificare nel lobulo classico l'unità funzionale del fegato, è possibile definire il concetto di acino epatico, una sezione elissoidale irrorata da un ramo terminale dell'arteria epatica e della vena porta e drenata da quello di un condotto bilifero, disposti a mo' di asse centrale, che occupa parte di due lobuli classici e si estende fino a due vene epatiche centrolobulari. Nell'acino epatico, partendo dal centro e procedendo verso la periferia, sono distinguibili tre zone concentriche di parenchima caratterizzate da differenti modalità di irrorazione che si riflettono sulle caratteristiche funzionali. (D'Angelo - Agguggini)

La zona 1, che è la più centrale e prossima all'arteriola epatica, risulta prevalentemente irrorata da sangue arterioso e, in misura minore, da sangue venoso portale; i suoi epatociti sono sede di attività enzimatica di tipo ossidativo, processi di sintesi proteica e gluconeogenesi. (D'Angelo - Agguggini)

La zona 3, più periferica e distante dai vasi assiali, priva di una propria arteriola, riceve sangue che ha già attraversato le zone 1 e 2 con le quali ha effettuato scambi di gas e metaboliti e quindi, i suoi epatociti con attività enzimatiche deputate al metabolismo di lipidi, steroidi e farmaci, sono più sensibili ai danni conseguenti ad anossia, ipossia e congestione. (D'Angelo - Agguggini)

Nella zona 2 le condizioni di circolo risultano intermedie.

1.2.5 VASI LINFATICI E NERVI

I linfatici del fegato formano due reti, una superficiale ed una profonda, unite da numerose anastomosi. La rete superficiale è più sviluppata sulla faccia diaframmatica; quella profonda nasce da sottili capillari perilobulari e si sviluppa

poi negli spazi interlobulari. I suoi vasi efferenti più grossi seguono le ramificazioni della vena porta e, in numero minore, i rami tributari delle vene epatiche.

I linfatici che abbandonano il fegato formano tre gruppi: il principale passa nell'ilo epatico, raccoglie la maggior parte della rete profonda e la rete superficiale della faccia viscerale e delle parti ventrale e laterali della faccia diaframmatica e fa capo ai linfonodi epatici ed epatici accessori e, talvolta, a quelli celiaci e gastrici.

Il secondo gruppo accompagna la vena cava caudale e drena gran parte della rete superficiale della faccia diaframmatica e le porzioni adiacenti della rete profonda. I suoi vasi efferenti passano nel torace e fanno capo ai linfonodi mediastinici caudali e toraco-aortici.

L'ultimo gruppo, di minore importanza, comprende qualche vaso efferente che passa nei legamenti e che si porta ai linfonodi parietali dell'addome lombo-aortici e al dotto toracico.

Per quanto riguarda l'innervazione, questa è fornita dai nervi vaghi e dal simpatico, che controllano la sensibilità, la secrezione epatica e la motilità dei vasi. I rami parasimpatici derivano dai tronchi ventrale e dorsale del vago, in prossimità dell'incisura esofagea e decorrono nel piccolo omento. In prossimità della porta del fegato, si uniscono ai rami provenienti dal plesso celiaco, che sono principalmente formati da fibre simpatiche, alle quali si mescolano fibre parasimpatiche nate dal tronco vagale dorsale che attraversano questo plesso senza interrompersi.

Questi rami si anastomizzano decorrendo con l'arteria epatica e, insieme, raggiungono la porta del fegato dopo aver scambiato fibre con i nervi destinati a pancreas, duodeno e stomaco.

I rami terminali si uniscono a quelli dell'arteria epatica e della vena porta e proseguono fin dentro i lobuli, dove terminano a contatto con le cellule epatiche mediante una sottile rete; altre fibre si portano sui condotti escretori e sui vasi.

1.2.6 SITEMA BILIARE

Le vie biliari sono costituite da un sistema convergente di condotti divisibili in due tratti, uno intraepatico e l'altro extra-epatico. Il primo comprende i condotti interlobulari, i condotti biliari e i condotti epatici; il secondo è costituito dal coledoco. La cistifellea, o vescichetta biliare, il principale deposito per la bile, è collegata mediante un canale di giunzione, il condotto cistico, al limite tra i due condotti precedente.

I condotti biliari interlobulari ricevono la bile dai duttuli biliari o canali di Hering, sia direttamente, sia per l'interposizione di esilissimi canalicoli perilobulari. Questi corti dotti di connessione sono in parte rivestiti da epatociti e, in parte, da colangiociti cuboidali. Alcune delle cellule del canale di Hering sono le cellule staminali del fegato dette anche cellule ovali, che possono differenziarsi in tutti i principali tipi cellulari del fegato.

I condotti biliari ricevono i condotti interlobulari e si riuniscono gradualmente aumentando quindi progressivamente il loro calibro, con contemporaneo ispessimento della loro parete.

I condotti epatici sono due, uno destro e uno sinistro. Ognuno drena l'insieme del corrispondente territorio del fegato; tuttavia, come per i vasi, i condotti biliari del lobo quadrato e del lobo destro mediale sono spesso drenati dagli affluenti del condotto epatico sinistro. Ciascuno dei due condotti epatici accompagna il ramo terminale corrispondente della vena porta. I due condotti si uniscono a dare origine al condotto coledoco, che decorre sino al duodeno, per aprirsi nella papilla duodenale maggiore circa 3-6 cm caudalmente rispetto al piloro. La giunzione tra coledoco e duodeno, la papilla di Vater, è situata nei pressi della testa del pancreas ed è circondata dallo sfintere muscolare di Oddi.

La cistifellea costituisce il principale serbatoio per la bile e il luogo in cui tale sostanza viene concentrata di circa 10 volte. Quando è riempita completamente contiene circa 1 ml di bile/kg di peso corporeo.

La struttura comprende sierosa, sottosierosa, tonaca muscolare e mucosa. Se la parete muscolare viene stimolata a contrarsi dalla colecistochinina liberata dalla mucosa duodenale, ne consegue un graduale svuotamento con ingresso della bile all'interno del duodeno grazie a distensioni ritmiche dello sfintere di Oddi.

1.3 Fisiologia

Il fegato è inserito nel circolo portale e in quello generale e questo fa sì che esso eserciti la sua attività sia sulle sostanze assorbite a livello intestinale, per le quali rappresenta un punto di passaggio obbligato prima che possano raggiungere gli altri tessuti, sia su quelle presenti nel circolo generale. Vi si attua, pertanto, una miriade di processi metabolici di ossidazione e di riduzione, di degradazione e di sintesi nell'ambito del metabolismo di glicidi, protidi, lipidi, composti azotati non proteici, acidi biliari, pigmenti biliari e numerose vitamine. Alla regolazione delle vie metaboliche si aggiungono altre funzioni, quali quelle di disintossicazione, di coniugazione, escretoria, di deposito.

1.3.1 SECREZIONE BILIARE

Il fegato è dotato di funzione biligenetica, che comprende la formazione della bile e la sua escrezione nell'intestino ed è anche una componente della funzione più generale di disintossicazione poichè nella composizione della bile, oltre ai normali costituenti prodotti dagli epatociti, entrano anche sostanze di derivazione ematica quali farmaci, metalli pesanti e coloranti impiegati a scopo diagnostico.

La bile è un liquido di colore giallo-bruno-verdastro, a pH alcalino, costituito per il 97% circa da acqua e per il 3% da sali inorganici (bicarbonati e cloruri di sodio e di potassio) ed organici (Sali degli acidi biliari, pigmenti biliari, lecitina, colesterolo ed

una piccola quantità di proteine).

L'elaborazione e la secrezione della bile si realizzano mediante la captazione e la sintesi di metaboliti da parte della cellula epatica, il trasporto di sostanze nella cellula stessa ed infine l'escrezione nei canalicoli biliari dei suoi componenti.

La bilirubina e la biliverdina sono i principali componenti biliari e derivano dal catabolismo dell'emoglobina e, in minor misura, dalla mioglobina, citocromi, catalasi.

L'emoglobina si libera con la distruzione dei globuli rossi che si attua nelle cellule reticolo-endoteliali della milza, del midollo osseo e del fegato; a livello epatico i pigmenti si formano nelle cellule di Kupffer, passano nel plasma e pervengono agli epatociti insieme con la bilirubina originatasi nelle altre sedi.

L'emoglobina subisce il distacco della globina e viene degradata ad amminoacidi mentre il gruppo eme, previa rimozione del ferro, che verrà impiegato nella sintesi di nuova emoglobina, viene trasformato in bilirubina e biliverdina. La bilirubina così formata è la bilirubina libera che è liposolubile e pertanto può facilmente penetrare all'interno delle cellule dove esercita effetto tossico interferendo con le funzioni metaboliche. Nel plasma la bilirubina libera viene trasportata legata alle albumine e quindi perde la capacità di diffondere attraverso le membrane cellulari. Nell'epatocita la bilirubina viene coniugata con l'acido glicuronico ad opera di una glicuronil-transferasi e trasformata in bilirubina diglicuronide. La bilirubina coniugata è idrosolubile ed è escreta attivamente dall'epatocita nei canalicoli biliari; quando perviene con la bile nell'intestino viene trasformata dalla β -glicuronidasi intestinale in bilirubina libera che, ad opera della flora batterica intestinale, viene ridotta a stercobilinogeno e urobilinogeno. Quest'ultimo è particolarmente assorbito dall'intestino, passa nel sangue e viene in piccola parte escreto con le urine come urobilina e per la quota restante riescreto con la bile. L'urobilinogeno non assorbito viene escreto con le feci come stercobilinogeno che, a contatto con l'aria ossida a stercobilina.

Gli acidi biliari sono prodotti specifici dell'attività metabolica degli epatociti e

derivano dal catabolismo dell'80% circa del colesterolo epatico. I più importanti sono l'acido colico e l'acido desossicolico che nell'epatocita vengono coniugati con la glicina e la taurina per dare gli acidi glicocolico e taurocolico. Gli acidi biliari subiscono trasformazioni ad opera della flora batterica intestinale e vengono in gran parte riassorbiti nel digiuno per diffusione e nell'ileo mediante trasporto attivo e, attraverso il circolo portale, riportati al fegato. La quota di essi che non viene riassorbita viene eliminata con le feci ed in piccola parte con le urine.

I Sali biliari sono secreti giornalmente come sale di sodio e di potassio degli acidi biliari. Nella digestione e nell'assorbimento dei lipidi rivestono grande importanza per l'azione tensioattiva che svolgono a livello dell'interfaccia acqua-grassi. Tale azione rende possibile la dispersione dei grassi sotto forma di goccioline, accrescendo notevolmente la superficie di contatto tra acqua e lipidi e moltiplicando le possibilità di contatto tra enzimi lipolitici e lipidi. Rendono possibile l'assorbimento delle vitamine liposolubili A, D, E, K, che, in loro assenza, come nelle ostruzioni biliari, vanno perse insieme con i grassi nelle feci, inoltre condizionano l'assorbimento del colesterolo, attivano la lipasi pancreatica e facilitano l'assorbimento di calcio, ferro e rame.

1.3.2 METABOLISMO GLICIDICO

- **GLICOGENOSINTESI:**

Il fegato mette in riserva il glicogeno, del quale è il tessuto più ricco, che viene sintetizzato a partire dal glucosio ematico o da altri metaboliti quali amminoacidi gluco- e lipo-genetici, l'acido lattico, gli acidi grassi, il glicerolo e l'acido propionico. È regolata da numerosi fattori, quali l'insulina che la stimola, i glicocorticoidi che esercitano azione attivante, l'adrenalina e il glucagone che favoriscono la glicogenolisi, la glicemia che, quando elevata, stimola la glicogenosintesi ed, infine, il glicogeno epatico che, quando aumentato esplica azione inibente sulla sintesi stessa.

- **GLICOGENOLISI:**

È il processo di demolizione del glicogeno e si svolge oltre che nel fegato anche nel muscolo e nel rene. Riveste importanza fondamentale nella regolazione della glicemia e avviene ad opera della fosforilasi, attivata da glucagone e adrenalina con produzione finale di glucosio libero che diffonde nel sangue, assicurando un costante apporto ai tessuti.

- **GLUCONEOGENESI:**

È il processo mediante il quale il fegato realizza la sintesi di glucosio a partire da precursori quali i lipidi, le proteine ed il propionato permettendo così di far fronte alle richieste di glucosio quando la dieta è carente di glicidi. Gli ormoni glicocorticoidi, il glucagone e l'adrenalina favoriscono la gluconeogenesi stimolando la sintesi degli enzimi specifici, mentre l'insulina la deprime.

- **GLICOLISI:**

Costituisce la più importante via di utilizzazione sia del glucosio assorbito che del glicogeno. Gli esosi vengono degradati a piruvato che, per decarbossilazione ossidativa, dà origine all'acetato e quindi a citrato che riveste importanza fondamentale nel ciclo degli acidi tricarbossilici di Krebs, con liberazione di energia che viene in parte conservata sottoforma di nucleotidi quali l'ATP.

- **GLICOGENESI:**

È il processo mediante il quale avviene la sintesi del glucosio partendo dai suoi metaboliti.

1.3.3 METABOLISMO LIPIDICO

Il fegato è il principale organo di trasformazione dei lipidi attraverso la biosintesi delle lipoproteine plasmatiche, la sintesi, l'utilizzazione e il rimaneggiamento degli

acidi grassi liberi (NEFA), la formazione dei fosfolipidi e del colesterolo.

La fase terminale del trasporto dei lipidi nell'intestino è la formazione dei chilomicroni da parte degli enterociti, complessi lipoproteici costituiti da trigliceridi, fosfolipidi, colesterolo e proteine. Questi vengono eliminati nel torrente linfatico e passano, tramite il dotto toracico, nel circolo sanguigno per raggiungere fegato e tessuto adiposo.

- **SINTESI ACIDI GRASSI E LORO UTILIZZAZIONE:**

Attività svolta prevalentemente dagli adipociti ma presente anche negli epatociti e nelle cellule di Kupffer. Il fegato capta una quota molto importante di NEFA derivanti dalla dissociazione dei chilomicroni o dalla lipolisi adipocitaria e li utilizza attraverso tre vie metaboliche: a) la β -ossidazione che esplica solo per una piccola parte di essi; b) la trasformazione in corpi chetonici quali acetoacetato, acetone e β -idrossibutirrato; c) l'esterificazione che riguarda la quota più elevata dei NEFA.

La seconda via riveste notevole importanza negli stati di digiuno prolungato; inoltre molti tessuti, in particolare il miocardio, sono in grado di utilizzare l'acetoacetato traendone fino al 70% del loro fabbisogno energetico.

L'esterificazione porta, attraverso il colesterolo, il glicerofosfato e il glicerolo, alla formazione di steridi, fosfolipidi e trigliceridi, che possono essere legati alle proteine a costituire le lipoproteine oppure essere depositati nel fegato.

- **SINTESI DELLE LIPOPROTEINE:**

Consiste nel legame dei lipidi (trigliceridi, NEFA, colesterolo libero, esteri del colesterolo, fosfolipidi) alle α e β globuline. In base alla loro densità, e quindi ai rapporti percentuali tra lipidi e proteine presenti in essi, se ne distinguono tre classi principali: VLDL (Very Low Density Lipoproteins), le più ricche in trigliceridi e più povere in proteine, trasportano triacilglicerolo dal fegato al tessuto adiposo; LDL (Low Density Lipoproteins) trasportano il

colesterolo dal fegato alle altre cellule del corpo; HDL (High Density Lipoprotein) molto ricche in proteine, recuperano il colesterolo dal corpo e lo ritrasportano al fegato.

- **SINTESI DEI FOSFOLIPIDI:**

Vengono sintetizzati dal fegato, a livello del reticolo endoplasmatico liscio, a partire da acidi grassi liberi

- **METABOLISMO DEL COLESTEROLO:**

La biosintesi del colesterolo può essere effettuata da tutte le cellule, ma appartiene soprattutto all'epatocita attraverso la condensazione di due molecole di acetil-CoA a formare acetoacetil-CoA che, in presenza di un'altra molecola di acetil-CoA forma idrossimetil-glutaril-CoA (HMG-CoA). Questo viene ridotto ad acido mevalonico dalla idrossimetil-glutaril-CoA riduttasi e poi il processo di sintesi procede da questo allo squalene, al lanosterolo e al colesterolo.

L'idrossimetil-glutaril-CoA riduttasi è l'enzima limitante l'attività della sintesi del colesterolo nel fegato e negli altri tessuti. Esso esiste in una forma fosforilata inattiva e in una defosforilata attiva ed è sotto il controllo del colesterolo esogeno trasportato alle cellule dalle lipoproteine e risente dell'influenza degli ormoni. Infatti alti livelli di insulina determinano un incremento della forma attiva, mentre il glucagone ne favorisce la fosforilazione e quindi l'inattivazione.

Il catabolismo del colesterolo porta alla formazione degli acidi biliari, degli ormoni steroidei e degli esteri del colesterolo.

1.3.4 METABOLISMO PROTEICO

Per le proteine non esistono forme di deposito da utilizzare in caso di necessità e sono pertanto soggette a continua scissione e risintesi. Le nuove molecole proteiche vengono sintetizzate a partire dai singoli amminoacidi presenti in circolo

utilizzando, in parte, anche quelli derivanti dalla scissione delle proteine corporee. Gli aminoacidi che costituiscono le proteine sono circa una ventina, alcuni di essi formati nell'organismo a partire da altri aminoacidi, mentre quelli così detti essenziali devono essere introdotti con la dieta.

Con l'assorbimento intestinale una grande quantità di aminoacidi perviene, attraverso la vena porta, al fegato che ne capta una quota importante ed interviene, in tal modo, nel controllo dell'amminoacidemia. Il livello del pool di aminoacidi liberi del sangue è condizionato, infatti, sia dall'idrolisi delle proteine alimentari e tissutali e per gli aminoacidi non essenziali dalla loro biosintesi, sia dalla loro captazione ed utilizzazione da parte del fegato sia, infine, dalla loro eliminazione urinaria. Gli aminoacidi captati dal fegato in parte vengono reintrodotti in circolo, in parte subiscono trasformazioni in senso catabolico, ed in parte, vengono impiegati per l'elaborazione delle proteine epatiche e plasmatiche. Le proteine plasmatiche sono l'albumina, le α_1 , α_2 , β e γ globuline e il fibrinogeno e sono sintetizzate dal fegato in una percentuale del 90% del totale. Le γ globuline e una parte delle α e β globuline si formano, infatti, nel tessuto linfoide e nelle plasmacellule.

L'albumina serica, interamente di origine epatica, svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento della pressione oncotica e nel trasporto di numerose sostanze quali calcio, magnesio, bilirubina libera, zinco, tiroxina, ecc. Le α e β globuline svolgono funzioni di trasporto di lipidi, vitamine ed ormoni.

Sempre di origine epatica sono le glicoproteine quali la transferrina che lega il ferro plasmatico, la ceruloplasmina che opera il trasporto del rame e le aptoglobuline che si combinano con l'emoglobina aumentandone la proprietà perossidasi.

La quasi totalità dei fattori della coagulazione del sangue è sintetizzata dal fegato; infatti soltanto la globulina antiemofilica (fattore VIII), l'antecedente plasmatico della tromboplastina (fattore XI) ed il fattore di Hageman (fattore XII) hanno origine nel sistema reticoloendoteliale.

1.3.5 METABOLISMO DEI COMPOSTI AZOTATI NON PROTEICI

L'ammoniaca perviene al fegato, attraverso il circolo portale, come tale e sottoforma di amminoacidi, principalmente alanina e glutammina, tramite il circolo sistemico. A livello epatico il gruppo amminico viene utilizzato dagli enzimi glutamminasi e glutammato deidrogenasi.

Le basi puriniche adenina e guanina sono degradate dal fegato e dal rene con formazione di acido urico attraverso reazioni catalizzate dalla ipoxantina deaminasi e dalla xantina ossidasi; questo a sua volta viene catalizzato dall'uricasi (ad eccezione del cane dalmata che elimina, come l'uomo, acido urico con le urine) con escrezione di allantoina.

La degradazione delle basi pirimidiniche citosina, uracile e timina porta alla formazione per le prime due di β -alanina e per la terza di acido β -amminoisobutirrico.

1.3.6 DETOSSIFICAZIONE DELL'ORGANISMO

Il fegato riveste un ruolo preponderante, anche se non esclusivo, nell'ambito di questa funzione che è svolta, peraltro, anche dal rene, dall'intestino, dal polmone e dalla cute. Per disintossicazione si intende l'insieme delle trasformazioni chimiche che il fegato opera a carico di sostanze tossiche, estranee all'organismo o anche endogene. Può tuttavia accadere che le sostanze diventino più tossiche dopo le modificazioni e, in questa evenienza, si parla di attivazione metabolica.

I processi di disintossicazione, legati all'azione di complessi polienzimatici microsomiali epatici, consistono sia in una modificazione della struttura della sostanza attraverso processi di ossidazione, riduzione, idrolisi, deaminazione, ecc., sia in una coniugazione di essa con un prodotto del metabolismo. Le più

comuni reazioni di coniugazione sono quelle risultanti dalla combinazione della sostanza estranea con acido glicuronico, acido solforico e glicina.

1.4 Vascolarizzazione

L'approvvigionamento di sangue al fegato è di tipo arterioso, ad elevata pressione e venoso, a bassa pressione. Il sangue arterioso proviene dall'arteria epatica, mentre l'irrorazione venosa giunge con la vena porta. Il flusso di sangue in uscita è raccolto da un certo numero di vene epatiche che si inseriscono nella vena cava caudale, vicino al diaframma.

Il rapporto tra approvvigionamento di sangue portale e arterioso non è costante, ma varia in funzione delle condizioni fisiologiche e patologiche. Il flusso di sangue portale aumenta a seguito dell'ingestione di cibo, mentre l'apporto di sangue arterioso si fa maggiore quando il flusso portale è insufficiente, e diminuisce in caso di congestione venosa epatica.

In contrapposizione, le variazioni del flusso di sangue arterioso non incidono su quello del sangue portale.

ARTERIA EPATICA

Costituisce il ramo destro della triforcazione del tronco celiaco; passa nel piccolo omento per raggiungere la porta del fegato, fornendo inoltre rami alla parte destra dello stomaco e del pancreas, al duodeno e al grande omento (arterie gastrica destra e gastro-duodenale). L'arteria epatica descrive un ampio arco a ridosso della porta del fegato, ventralmente alla vena porta, prima di fornire le arterie destinate alla porzione pilorica dello stomaco e al duodeno. Stacca, di passaggio, il ramo epatico destro, quindi quello sinistro; quest'ultimo diviso in tre arterie distinte, ma

vicine, che penetrano nella porta del fegato.

VENA PORTA

È il vaso funzionale del fegato, al quale conduce il sangue refluo da tutti gli organi dell'apparato digerente situati nella cavità addominale. Caudalmente al fegato è dotata di vasi tributari che, in direzione caudocraniale, sono rappresentati dalle vene mesenterica craniale, mesenterica caudale, splenica, gastroduodenale e pancreaticoduodenale.

A livello ilare si divide in due branche principali: quella destra che irrorla la porzione destra del fegato, eccetto il processo papillare del lobo caudato e si divide dando origine ai rami laterale destro e caudato; e quella sinistra, di calibro maggiore, da cui origina un ramo centrale diretto al lobo mediale di destra e un piccolo ramo papillare che si dirige al lobo omonimo prima di dividersi nei rami laterale sinistro, mediale sinistro e quadrato.

VENE EPATICHE

Raccogliono tutto il sangue refluo dal fegato e lo versano nella vena cava caudale e nel cane sono in numero variabile da sei a otto. La vena epatica sinistra raccoglie il sangue venoso della zona sinistra del fegato, è quella di calibro maggiore, è situata in posizione più craniale e si innesta nella superficie laterale sinistra della vena cava caudale in prossimità della superficie viscerale del diaframma. Il sangue venoso proveniente dalla porzione centrale del fegato viene convogliato da una o due vene epatiche che penetrano nella superficie ventrale della vena cava caudale in posizione caudomediale rispetto alla vena epatica sinistra. Le vene epatiche originanti dalla zona destra dell'organo raggiungono la vena cava caudale lungo la sua superficie ventrolaterale.

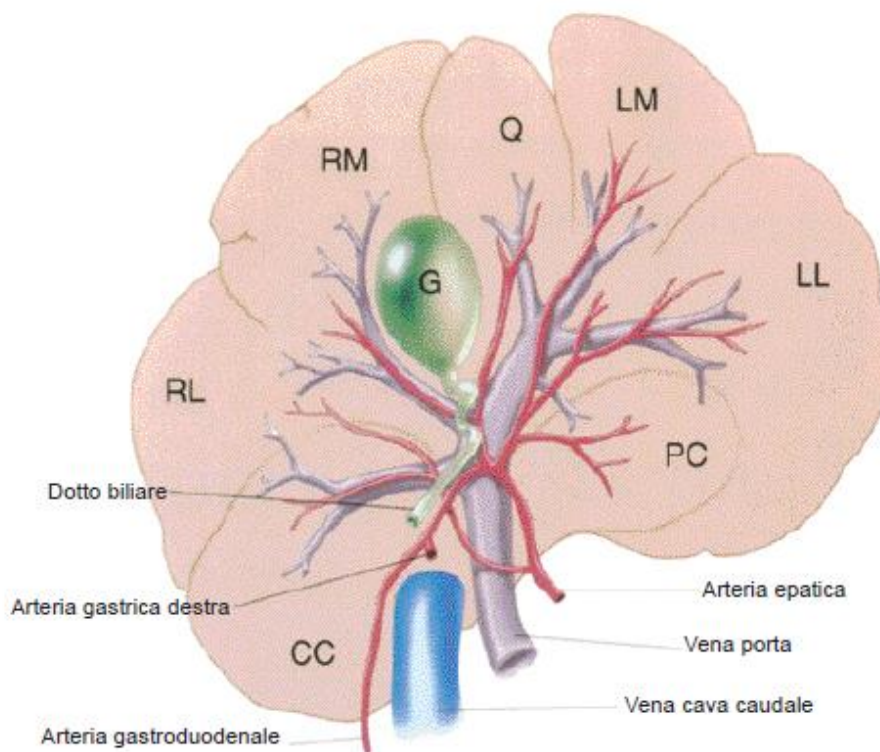


Figura 1.1 Anatomia del fegato (superficie viscerale), arteria epatica e vena porta nel cane. I sei lobi epatici sono rappresentati da lobo caudato, suddiviso in processi caudato (CC) e papillare (PC); lobo laterale sinistro (LL); lobo mediale sinistro (LM); lobo quadrato (Q); lobo mediale destro (RM) e lobo laterale destro (RL). La cistifellea (G) è compresa tra i lobi quadrato e mediale destro. – Tecniche chirurgiche per l'occlusione extravascolare degli shunt intraepatici, Tobias KM, 1999

CAPITOLO 2

SHUNT PORTOSISTEMICO: **APPROCCIO CLINICO E** **DIAGNOSTICO**

2.1 Introduzione: anomalie vascolari **del fegato**

2.1.1 PSS – SHUNT PORTOSISTEMICO

Gli shunt portosistemici (PSS) sono anomalie vascolari che causano un dirottamento del sangue venoso portale verso la circolazione venosa sistemica bypassando i capillari sinusoidi e il parenchima epatico. Possono essere classificati in congeniti, solitamente singoli e a loro volta distinguibili in intraepatici ed extraepatici, ed acquisiti, in genere multipli, tortuosi ed extraepatici.

Lo shunt congenito portosistemico (CPPS) extraepatico consiste in cortocircuiti veno-venosi aberranti tra sistema venoso vitellino (vasi portalì extraepatici) e quello cardinale del feto (vena cava caudale e vene azigos) (Marcato PS, 2008).

Lo shunt congenito portosistemico intraepatico consiste, invece, nella mancata chiusura del dotto venoso, che trasporta il sangue ossigenato placentare alla circolazione sistemica fetale bypassando la circolazione epatica e che, normalmente, si oblitera entro i primi tre giorni di vita. Gli CPSS intraepatici hanno generalmente un diametro maggiore rispetto a quelli extraepatici (Komtebedde J et al., 1991).

Gli shunt multipli acquisiti sono secondari a malattie epatiche ed ipertensione portale cronica: un aumento della pressione portale causa, infatti, l'apertura di vasi sanguigni fetali, cui fa seguito una riduzione della pressione idrostatica delle vene portalì. Le cause più comuni sono la cirrosi epatica, l'ipertensione portale non cirrotica, le malformazioni epatiche artero-venose (HAVM) e l'ipoplasia venosa portale congenita (PVH) (Berent AC e Tobias KM, 2009).

2.1.2 PVH – IPOPLASIA VENOSA PORTALE

L'ipoplasia venosa portale, un tempo definita displasia del microvascolare epatoportale (MVD) è una malformazione patologica del microcircolo epatico che può essere o meno associata ad un PSS macroscopico. L'anomalia è caratterizzata dalla presenza di anastomosi tra sangue portale e sangue arterioso che si realizzano a livello intralobulare. È stato ipotizzato che la PVH si realizzi per effetto di una persistenza delle vene vitelline, che di norma scompaiono trasformandosi in sinusoidi negli ultimi stadi dell'embriogenesi, risultando in un collegamento diretto tra il sangue della vena interlobulare e della vena centrale ed infine, quindi,

della circolazione sistemica (Phillips L et al., 1996). Istologicamente è caratterizzata dalla presenza di un numero elevato di piccoli vasi sanguigni arteriosi negli spazi portal, dall'ipoplasia o assenza di vasi venosi portal negli stessi spazi e dalla capillarizzazione dei sinusoidi (Marcato PS, 2008).

I segni clinici possono essere simili a quelli del PSS, tuttavia sono generalmente meno gravi, si presentano più tardivamente ed hanno una prognosi a lungo termine migliore con il solo trattamento medico (Berent AC e Tobias KM, 2009).

2.1.3 HAVM – MALFORMAZIONE EPATICA ARTERO-VENOSA

Si tratta di una rara alterazione congenita dovuta a connessione anastomotica di uno o più lobi tra una branca dell'arteria epatica e rami della vena porta. La connessione genera un aumento di pressione nel circolo intraepatico portale per l'immissione di sangue a pressione elevata (arteria epatica) in un sistema a bassa pressione (vena porta), da cui deriva la c.d. „arterizzazione“ della circolazione portale con turgore e tortuosità di vasi superficiali (varici arterovenose) (Marcato PS, 2008).

Precedentemente denominata fistola artero-venosa epatica, ma meglio definita come malformazione, in quanto la maggior parte degli animali affetti presentano numerose comunicazioni piuttosto che una singola fistola.

A causa dell'aumento della pressione nel circolo portale si stabiliscono secondariamente multipli shunt veno-venosi tramite preesistenti connessioni collaterali tra vena porta e vena cava, per decomprimere il sistema portale (Chanoit G et al., 2007).

2.2 Anatomia dello shunt

Nelson NC e Nelson L nel 2011 hanno effettuato uno studio, tramite angioTC e successiva ricostruzione tridimensionale delle immagini, al fine di ottenere una panoramica più precisa e comprensiva dell'anatomia portale in cani affetti da shunt congenito portosistemico extraepatico. Sono stati identificati sei tipi di shunt:

- **SHUNT SPLENO-CAVALE:** origina dalla vena splenica e termina nella vena cava a livello del polo craniale del rene destro. Il diametro della vena splenica a livello della sua inserzione nella vena porta risulta uguale o maggiore del diametro della vena porta caudalmente a questo sito. Cranialmente, invece, la vena porta risulta bruscamente ridotta in dimensioni. Lo shunt si estende cranialmente e dorsalmente alla vena splenica dilatata.
- **SHUNT SPLENO-FRENICO:** origina dalla vena splenica e termina nella vena cava cranialmente al fegato. Il punto di partenza dello shunt è lo stesso del tipo precedentemente descritto ma si estende più cranialmente, sorpassando il fegato lungo il diaframma e si inserisce a sinistra nella vena cava. La vena epatica, situata cranialmente, entra nella faccia ventrale del vaso anomalo, in prossimità dell'inserimento dello stesso nella circolazione sistemica.
- **SHUNT SPLENO-AZYGOS:** sorge dalla vena splenica e si conclude nella vena azygos. Il grosso shunt si estende, a partire dalla vena splenica, cranialmente e dorsalmente, lungo un tortuoso percorso tra la porzione destra del fondo gastrico e la vena azygos, che cranialmente si continua in torace. Una branca venosa della piccola curvatura dello stomaco entra nella faccia ventrale dello shunt a livello del diaframma.
- **SHUNT GASTRICA DI DESTRA-CAVA:** lo shunt si estende ventralmente, verso sinistra e caudalmente lungo la piccola curvatura dello stomaco, per inserirsi a sinistra nella vena cava. Lo shunt può originare dalla vena gastroduodenale, vicino la sua inserzione nella vena porta, oppure due corte branche dello shunt originano dalla vena gastroduodenale o da

questa e dalla vena porta, e si anastomizzano in un grosso shunt.

- SHUNT VENA GASTRICA DI DESTRA-AZYGOS: prende origine dalla vena gastroduodenale e termina nella vena azygos. Lo shunt si estende verso sinistra e dorsalmente, seguendo un percorso simile a quello dello shunt spleno-azygos. Una più piccola branca dello shunt origina dalla vena splenica per portarsi cranialmente e dorsalmente fino ad unirsi con la branca più grande, in prossimità della piccola curvatura dello stomaco.
- SHUNT VENA GASTRICA DI DESTRA-CAVA: un grosso shunt origina dalla vena gastroduodenale e si porta a sinistra per andare a congiungersi con un altro shunt a partenza dalla vena splenica, dando perciò origine ad un corto vaso comune che va ad inserirsi nella vena cava caudale.

Lo shunt congenito portosistemico intraepatico è localizzato prevalentemente nella parte sinistra del fegato, in funzione della normale localizzazione del dotto venoso, che nel feto collega il seno ombelico-portale e la vena epatica sinistra; ma talvolta lo si può reperire al centro nella forma di un foramen tra porzioni dilatate della vena porta intraepatica e la vena cava caudale, oppure nel lobo laterale destro, ed in questo caso è dovuto alla branca destra della vena porta che attraverso un vaso largo e tortuoso si getta direttamente nella vena cava (Marcato PS, 2008).

2.3 Segnalamento

Gli shunt portosistemici extraepatici costituiscono quasi il 63% degli shunt singoli nel cane e risultano essere più frequenti in cani di taglia piccola o toy. In letteratura, tra le razze maggiormente predisposte, sono riportati lo Yorkshire terrier, l'Havanese, il Maltese, il Jack Russel, il Carlino e lo Schnauzer nano (Mathews KG et al., 2009).

Di contro, lo shunt portosistemico intraepatico, che costituisce circa il 35% degli

shunt singoli nel cane, si presenta con incidenza maggiore nei cani di taglia grande-gigante, specialmente nell' Irish wolfhound, nel Labrador retriever, nel Golden retriever e nel Pastore australiano (Krotscheck U et al., 2007).

È stata dimostrata un'ereditarietà per lo shunt intraepatico congenito sinistro nell'Irish wolfhound (Kerr MG et al., 1999).

2.4 Encefalopatia epatica

L'encefalopatia epatica (HE) è definita come una disfunzione cerebrale che si manifesta quando viene persa più del 70% della funzionalità del parenchima epatico (Jalan R et al., 2003) e che costituisce un complesso di sintomi neurologici. Può verificarsi a seguito di un'insufficienza epatica totale severa acuta (detta anche insufficienza epatica fulminante) da necrosi acuta e completa del fegato e può essere provocata da infezioni o tossine, oppure in una forma cronica, da subclinica a grave, indotta nei casi più frequenti da shunt portosistemici.

Di norma lo sviluppo del fegato è regolato dall'espressione di fattori di crescita rilasciati a seguito dell'azione di fattori stimolanti provenienti dalla circolazione portale. Pertanto in assenza di questi fattori di stimolazione, il fegato non segue una crescita normale. Ciò spiega la ragione per cui i pazienti con shunt congeniti portosistemici possono manifestare sintomatologia già a partire da pochi mesi di vita.

I sintomi clinici dell'encefalopatia epatica sono variabili e riconducibili a squilibri metabolici a livello cerebrale che interferiscono con diversi sistemi di neurotrasmissione. Tuttavia poichè l'integrità cerebrale non è compromessa, a meno che non si tratti di stadi molto avanzati, i sintomi neurologici sono completamente reversibili se è possibile trattare la noxa patogena sottostante.

Caratteristica è la natura episodica dell'encefalopatia epatica con fluttuazione della sintomatologia tra lo stadio 1 e lo stadio 4 con l'alternarsi di uno o più giorni di segni gravi con periodi più o meno normali della durata di una o più settimane. Più specificatamente gli stadi della sintomatologia neurologica possono essere riassunti come segue:

- STADIO 1: apatia, diminuito stato di vigilanza mentale, sguardo fisso, mancanza di consapevolezza di ciò che li circonda
- STADIO 2: atassia, movimenti di maneggio, anteropulsione, cecità intermittente, salivazione
- STADIO 3: stupore, salivazione grave, completa inattività ma con risposta agli stimoli
- STADIO 4: coma, totalmente non responsivo

Fattori predisponenti per l'insorgenza di una sintomatologia più severa sono: pasti ricchi in proteine, ipopotassiemia, alcalosi, ipovolemia, ipossia, azotemia, costipazione, emorragie gastrointestinali, infezioni, farmaci e trasfusioni di sangue stoccato che contiene elevati livelli di ammoniaca.

I più importanti sistemi di neurotrasmissione coinvolti nell'encefalopatia epatica cronica sono il glutammato, la dopamina/noradrenalina e il sistema dell'acido gamma- amminobutirrico/benzodiazepine (GABA/BZ).

Più di venti differenti sostanze si accumulano in circolo in elevate concentrazioni alterando molteplici aspetti della funzionalità del sistema nervoso centrale: gli amminoacidi aromatici causano una diminuzione della sintesi dei neurotrasmettitori dopaminergici e aumentano la produzione di falsi neurotrasmettitori; gli acidi biliari rendono la barriera emato-encefalica più permeabile; le benzodiazepine endogene causano un'iperpolarizzazione della membrana neuronale; il triptofano provoca una neuro-inibizione per azione tossica diretta; la glutammina altera il trasporto amminoacidico attraverso la barriera emato-encefalica; i falsi neurotrasmettitori esercitano un'azione sinergica con l'ammoniaca e gli acidi grassi a catena corta e diminuiscono la detossificazione

dell'ammoniaca nel ciclo cerebrale dell'urea (Berent AC et al., 2009).

Il GLUTAMMATO è uno dei più importanti neurotrasmettitori eccitatori dell'encefalo ed è influenzato direttamente dall'ammoniemia. L'ammoniaca è prodotta prevalentemente a livello intestinale per azione dei batteri del colon che operano degradazione dei composti azotati (proteine, ammine, urea) e per mezzo del metabolismo intermedio della glutammina che si verifica nella mucosa intestinale. Di norma, il fegato rimuove totalmente l'ammoniaca dal sistema portale in un solo passaggio e ne mantiene, quindi, la concentrazione periferica a livelli molto bassi. La maggior parte dell'ammoniaca è convertita in urea dagli enzimi contenuti negli epatociti situati intorno alle aree portali dei lobuli epatici. L'urea viene trasportata dal sangue ai reni per essere escreta con le urine.

Un'altra via per rimuovere l'ammoniaca utilizzata dalle cellule di tutti i tessuti consiste nella sua incorporazione in glutammato e glutammina (sostanza che contiene due molecole legate di ammoniaca). La glutammina entra in circolo ed è metabolizzata a livello della mucosa intestinale e dei reni, dove viene liberata ammoniaca. Quella intestinale rientra nel ciclo e quella prodotta a livello tubulare viene escreta nelle urine.

Nei pazienti con shunt portosistemico questo meccanismo viene in gran parte a mancare con conseguente iperammoniemia e successiva comparsa di concentrazioni tossiche di ammoniaca nel sistema nervoso.

In condizioni fisiologiche, l'ammoniaca presente in circolo penetra negli astrociti, che separano i neuroni dal sangue, dove viene incorporata nella glutammina attraverso un processo ATP-dipendente per azione della glutammina sintetasi; enzima che presenta una scarsa riserva funzionale. La glutammina diffonde all'interno dei neuroni presinaptici adiacenti, dove viene convertita in glutammato dalla glutamminasi e quest'ultimo viene parzialmente convertito in GABA. Il glutammato eccitatorio e il GABA inibitorio danno luogo ad un equilibrio che determina l'eccitabilità dei neuroni postsinaptici.

Perciò in caso di iperammoniemia il sistema della glutammina sintetasi viene saturato e l'ammoniaca libera diffonde all'interno dei neuroni presinaptici e porta

alla formazione di altro glutammato e all'inibizione della glutammina, incrementando ulteriormente la quantità di neurotrasmettitori glutaminergici nel neurone presinaptico, che a sua volta comporta la sovrastimolazione del neurone postsinaptico.

Solo la forma non ionizzata dell'ammoniaca NH_3 è in grado di attraversare le membrane cellulari, facoltà invece preclusa allo ione NH_4^+ . Nei fluidi extra- ed intra-cellulari esiste un equilibrio tra NH_4^+ e $\text{NH}_3 + \text{H}^+$, il quale si sposta verso NH_3 durante l'alcalosi e verso NH_4^+ in situazioni di neutralità del pH ematico o di acidosi. Nei momenti di alcalosi (la cui forma più grave è indotta dall'ipokaliemia) l'ammoniaca ha dunque facile accesso all'interno dei neuroni aggravando l'encefalopatia epatica.

Nei soggetti con encefalopatia epatica si riscontra anche un aumento del tono del sistema recettoriale GABA/BZ con meccanismo patogenetico scarsamente conosciuto; è importante però ricordare di non utilizzare barbiturici e benzodiazepine attivanti questo sistema.

Nei pazienti con shunt portosistemico, inoltre, gli AMMINOACIDI AROMATICI tirosina, triptofano e fenilalanina, assorbiti a livello intestinale, non vengono adeguatamente eliminati dal fegato. Se concentrazioni eccessive di questi amminoacidi raggiungono il cervello viene danneggiato il sistema di neurotrasmissione delle CATECOLAMINE. Il precursore di dopamina/noradrenalina è la tirosina, che può essere utilizzata dai neuroni in quantità limitate. Quando i neuroni sono raggiunti da un eccesso di tirosina producono metaboliti alternativi come la tiramina e l'octopamina. Questi falsi neurotrasmettitori occupano i recettori delle catecolamine, ma sono privi di funzionalità e bloccano dunque la neurotrasmissione monoaminergica a livello del sistema nervoso centrale (Holt DE, et al., 2002).

2.5 Anamnesi, segni clinici e

sintomatologia

La maggior parte dei cani valutati per uno shunt portosistemico congenito si presenta alla visita veterinaria con segni clinici acuti o cronici già all'età di 1-2 anni o meno, sebbene alcuni pazienti abbiano un'età superiore ai 10 anni (Worley DR e Holt DE, 2008). Poiché la vena azygos è molto più piccola della vena cava, il flusso attraverso uno shunt porta-azygos risulta molto inferiore, e questi cani esibiscono, di solito, segni meno severi, che spesso si palesano in età più avanzata.

In anamnesi viene riportato un paziente che manifesta stentato accrescimento, perdita di peso, intolleranza agli anestetici, ritardo mentale o letargia, alterazione del comportamento (pressione della testa contro ostacoli, sguardo fisso e perso nel vuoto, vocalizzazioni casuali, stazione quadrupedale fissa contro pareti, aggressività) (Brent A et al., 2007).

Alcuni animali si presentano con anamnesi di ematuria, stranguria, pollachiuria od ostruzione urinaria. Il proprietario può inoltre riscontrare un aumento della sete e del volume delle urine. La polidipsia può costituire una manifestazione psicogena secondaria all'encefalopatia epatica; inoltre, un'eccessiva secrezione di ACTH da parte dell'ipofisi, mediata da falsi neurotrasmettitori, può avere come conseguenza un'aumentata produzione di cortisolo dalle ghiandole surrenali e un'alterazione della soglia del rilascio dell'ormone antidiuretico (ADH - vasopressina) (Maddison JE, 2000).

Circa il 30% dei soggetti manifesta sintomi gastrointestinali quali vomito, pica, anoressia, diarrea o sanguinamenti gastrointestinali con melena e/o ematemesi responsabili della perdita di peso e dell'accrescimento rallentato.

Da uno studio è inoltre risultato che i cani con PSS congenito associato a grave ipoalbuminemia presentavano ascite (Chanoit G et al., 2007). È spesso associata ad enteropatia proteino-disperdente per ulcere gastrointestinali o malattia infiammatoria intestinale.

In letteratura sono inoltre riportati altri difetti congeniti associati alla presenza di

shunt portosistemico, che includono criptorchidismo (fino al 50% dei cani), soffi cardiaci e colorazione ramata dell'iride (Johnson CA et al., 1987; Mathews KG et al., 2005)

2.6 Diagnostica di laboratorio

2.6.1 EMATOLOGIA

2.6.1.1 ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

I cani con shunt portosistemico mostrano un'anemia microcitica normocromica non rigenerativa da lieve a moderata nel 60-72% dei casi (Tobias KM et al., 2003). La causa della microcitosi non è ancora del tutto chiarita e diversi studi ipotizzano che possa essere la conseguenza di un alterato meccanismo nel trasporto del ferro, dei bassi livelli sierici di ferro e dell'aumento delle riserve di ferro nelle cellule di Kupffer.

Per quanto riguarda la valutazione morfologica è invece possibile riscontrare la presenza di emazie a bersaglio, caratterizzate dalla disposizione dell'emoglobina ad anelli concentrici e dunque così denominate in quanto con le comuni colorazioni appaiono scure al centro e alla periferia con la presenza di una porzione intermedia più chiara.

La leucocitosi può essere secondaria allo stress oppure all'effetto dell'inadeguata clearance epatica di batterie e endotossine (Tams TR, 2003).

2.6.1.2 PROFILO BIOCHIMICO

Si riscontrano comunemente aumenti di 2-3 volte dei livelli sierici di fosfatasi alcalina (ALP) e alanina-aminotransferasi (ALT). L'origine degli elevati livelli di ALP

è sconosciuta, tuttavia l'isoenzima di origine ossea potrebbe contribuire a determinare l'elevata attività sierica totale di questo enzima nei cani in accrescimento, ma è stato anche ipotizzato un danno degli organuli epatici subcellulari ed un incremento del rilascio o una diminuzione dell'eliminazione della ALP canalicolare (Mathews KG, 2005).

Altri rilievi sono quelli tipici di una disfunzione epatica globale: ipoalbuminemia (50% dei soggetti), ipoglicemia e ipocolesterolemia da diminuita sintesi epatica, azotemia diminuita per la ridotta conversione dell'ammoniaca ad urea nel ciclo epatico, iperammoniemia da poststimolazione e concentrazioni sieriche di acidi biliari (SBA, serum bile acid) normali o elevate a digiuno ed elevate nel periodo postprandiale.

2.6.1.3 PROFILO COAGULATIVO

Gli epatociti sono il sito primario di sintesi di dei fattori della coagulazione (ad eccezione del fattore VIII), dei componenti del sistema fibrinolitico e di diverse proteine plasmatiche che regolano la coagulazione e il sistema fibrinolitico (Brophy MT et al., 1996).

I cani con PSS possono avere tempi di trombolastina parziale attivata (PTT) prolungati con, o più frequentemente, senza aumenti del tempo di protrombina (PT), non associati alla tendenza al sanguinamento.

Il PT misura l'attività dei fattori della via estrinseca e della via comune della coagulazione: fattori VII, X, II, V e I (fibrinogeno). Il PTT valuta la funzionalità della via intrinseca e della via comune e perciò riguarda i fattori XII, XI, IX, VII, X, V, II e I. Dunque un PT normale ed un PTT prolungato suggeriscono un'alterazione, singola o combinata, dei fattori XII, XI, IX o VIII. Esistono più teorie sui meccanismi che potrebbero condurre a questa situazione: la compromissione della sintesi epatica dei fattori della coagulazione legata alla possibilità che la risposta degli epatociti alla carenza di ossigeno e nutrienti comporterebbe l'anomala produzione di alcuni specifici fattori della coagulazione; oppure l'aumentata suscettibilità di questi fattori alla distruzione per una maggiore quantità di inibitori circolanti. Il sistema

reticoloendoteliale del fegato, infatti, è un importante sito per la clearance dei fattori attivati, dei fattori della degradazione della fibrina e del fibrinogeno. In caso di shunt portosistemico, quindi, queste sostanze sfuggirebbero all'azione del sistema reticoloendoteliale con conseguente aumento dei loro livelli nel sangue periferico e disordini emocoagulativi.

Il prolungamento di entrambi condurrebbe invece ad un deficit dei fattori X, V, II oppure I.

2.6.1.4 TEST DI FUNZIONALITA' EPATICA: SBA, UBA E ATT

Gli acidi biliari vengono sintetizzati esclusivamente dal fegato a partire dal colesterolo. Dopo la coniugazione con la taurina o la glicina, sono escreti nella bile per poi essere concentrati e stoccati nella cistifellea. Dopo l'ingestione di un pasto, il rilascio di colecistochinina stimola la contrazione della colecisti e il trasporto degli acidi biliari nell'intestino. Nel lume enterico, gli acidi biliari contribuiscono alla solubilizzazione e all'assorbimento dei lipidi. Quando raggiungono l'ileo, vengono riassorbiti ed immessi nella circolazione portale, da dove vengono nuovamente estratti dagli epatociti sinusoidali. L'alterazione del circolo enteroepatico degli acidi biliari esita in un aumento della loro concentrazione totale sierica (TSBA, total serum bile acid). Durante il digiuno, quando il circolo enteroepatico degli acidi biliari è basso, anche il valore di TSBA è basso. Dopo un pasto, gli acidi biliari vengono rilasciati e l'aumento dei loro livelli nella vena porta si riflette in un innalzamento transitorio del valore di TSBA. Questa stimolazione endogena viene dunque sfruttata in ambito clinico: gli acidi biliari pre- e post-prandiali sono importanti per valutare la funzionalità epatica e per lo screening dello shunt portosistemico.

Presentano tuttavia alcune limitazioni. Numerosi fattori possono influire sul circolo enteroepatico degli acidi biliari, fra questi si deve menzionare il completo svuotamento della cistifellea e dello stomaco, il tempo di transito intestinale, l'efficienza del riassorbimento a livello dell'ileo e la frequenza del circolo enteroepatico. Inoltre, un inadeguato contenuto di grassi nel pasto di prova o una

quantità insufficiente di cibo, può portare ad uno scarso rilascio di colecistochinina con mancata contrazione della cistifellea. In secondo luogo, un 20% circa dei cani presenta un valore preprandiale più elevato. Ciò avviene quando si verificano delle contrazioni della cistifellea durante il momento del digiuno che precede il test. La condizione può anche essere associata a variazioni individuali dello svuotamento dello stomaco, della risposta al rilascio di colecistochinina e del tempo di transito intestinale. I cani di razza Maltese, inoltre, hanno acidi biliari aumentati senza che sia presente un sottostante problema epatico. Un terzo limite è che la correlazione tra la gravità delle alterazioni istologiche o l'entità dello shunt portosistemico e l'entità dell'aumento degli TSBA, se esiste, è scarsa.

Infine, è importante ricordare che gli acidi biliari non sono specifici per gli shunt portosistemici poichè un loro aumento è stato osservato in corso di malattie epatobiliari, colestasi, somministrazione di glucocorticoidi ed antiepilettici, collasso tracheale, crisi convulsive e malattia gastrointestinale (Willard MD et al., 1999).

Quando si valutano determinazioni seriali degli TSBA per monitorare la progressione della malattia o una risposta alla terapia, si può utilizzare come indicatore affidabile di remissione clinica solo il ritorno alla normalità.

Occorre tuttavia considerare che anche le alterazioni del siero quali lipemia ed emolisi possono interferire con la misurazione e perciò si deve somministrare una quota di alimento ridotta. Inoltre la somministrazione di cibo risulta essere molto difficoltosa nei soggetti disoressici o anoressici quali sempre sono i soggetti epatopatici. Pertanto, considerando le difficoltà tecniche dell'esame degli acidi biliari sierici, nella pratica veterinaria si preferisce la misurazione degli acidi biliari urinari (UBA). Per correggere i valori ottenuti in base al flusso urinario, al peso specifico e alla diluizione degli acidi biliari, i risultati vengono normalizzati, cioè rapportati alla creatinina urinaria.

Quando si sospetta una falsa negatività degli acidi biliari, si può ricorrere alla misurazione dei livelli plasmatici di ammoniaca. La sensibilità all'ammoniaca basale negli animali a digiuno si avvicina al 100% (Sterczar A et al., 1999) e quindi

il test di tolleranza all'ammoniaca è raramente necessario per la diagnosi di PSS. Il digiuno prolungato, la dieta a basso contenuto proteico e la somministrazione di lattulosio possono tuttavia diminuire la concentrazione dell'ammoniaca basale, ma non incidono, invece, sul test di tolleranza all'ammoniaca (Winkler JT et al., 2003).

La concentrazione degli acidi biliari è stata comunque considerata meno sensibile e meno specifica dell'ammoniaca per la diagnosi di shunt portosistemico (Gerritzen-Bruning MJ et al., 2006); il test di tolleranza all'ammoniaca (ATT) è sempre anormale nei cani con PSS (Rothuizen J et al., 1982). Nei cuccioli di Irish wolfhound è possibile avere risultati falsi positivi a causa di un difetto congenito nel metabolismo dell'ammoniaca (Winkler JT et al., 2003).

Il test fornisce una valutazione semiquantitativa sullo sviluppo dello shunt e può pertanto essere utilizzata per valutare il decorso postoperatorio dopo il trattamento chirurgico.

L'ATT può essere eseguito con la somministrazione per via orale o rettale di cloruro di ammonio. La via rettale viene preferita in quanto meglio tollerata dall'animale e di più facile esecuzione per il medico. Si valutano dunque due campioni prelevati prima e trenta minuti dopo la somministrazione del cloruro d'ammonio (100mg/kg; senza superare la dose massima di 3mg).

2.6.2 ESAME DELLE URINE

Fino al 50% o più degli animali colpiti può presentare urina ipostenurica dovuta alla polidipsia e al diminuito gradiente di concentrazione della midollare. L'iperammoniuria, causata dal ciclo epatico dell'urea malfunzionante, insieme ad un inappropriato metabolismo dell'acido urico, è responsabile di un'eccessiva escrezione di ammoniaca e di urati con formazione di cristalluria da biurato di

ammonio (26-57% dei cani) (Johnson CA et al., 1987) o di calcoli (30%) (Winkler JT et al., 2003).

A parte i difetti di concentrazione e i riscontri del sedimento urinario tipici degli animali con anomalie vascolari epatiche, si hanno scarse informazioni sulle caratteristiche conseguenze renali. Può essere presente proteinuria e si pensa possa essere secondaria a sclerosi glomerulare oppure ad un'altra glomerulopatia. In uno studio di 12 cani, tutti mostravano evidenza di moderata-grave glomerulofibrosi o glomerulonefrite membranoproliferativa (Tisdall PC et al., 1997). Questo legame tra la presenza di una malattia epatica grave e la glomerulonefrite è stato da tempo osservato in medicina umana e si pensa sia secondario all'accumulo renale di antigeni che bypassano la clearance epatica.

2.7 Diagnostica per immagini

La conferma dell'esistenza di una comunicazione vascolare tra la circolazione portale e quella sistemica si può ottenere con diverse tecniche di diagnostica per immagini come l'ecografia, la tomografia computerizzata (TC), la risonanza magnetica (MR), la scintigrafia e la portografia.

Nel 60% dei cani (Mathews KG et al., 2005) con PSS è possibile riscontrare una microepatia con le immagini radiografiche in bianco. Sono inoltre documentabili nefromegalia bilaterale e uroliti di biurato di ammonio in vescica, ureteri o reni.

2.7.1 INDAGINE ECOGRAFICA

L'ecografia addominale è un metodica diagnostica con elevata sensibilità e specificità per la diagnosi di PSS, non è invasiva, non richiede l'anestesia generale

e nemmeno le autorizzazioni e le precauzioni di manipolazione necessarie per la somministrazione di radioisotopi.

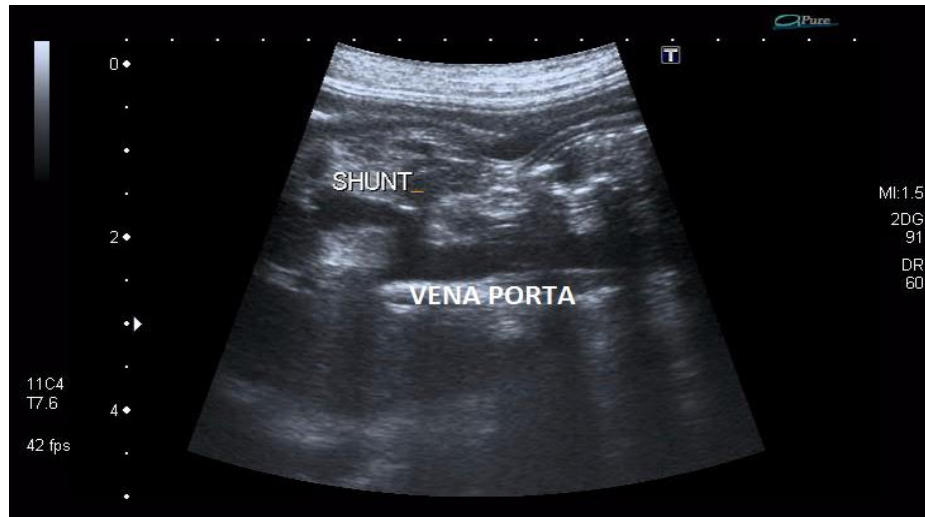


Figura 2.1 Immagine ecografica di PSS Extraepatico. Frame che evidenzia l'origine dello shunt a partenza dalla vena porta - Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" Univerità di Pisa – Per gentile concessione del Dott. Mannucci

È possibile evidenziare un fegato di dimensioni ridotte, un minor numero di vene epatiche e portalì e direttamente il vaso anomalo ed il suo andamento. Lo shunt intraepatico è di più facile individuazione dal momento che i vasi anastomizzati sono circondati dal parenchima epatico, mentre gli shunt extraepatici sono generalmente più piccoli e possono essere oscurati dall'attenuazione delle onde sonore per la presenza di gas gastrico e intestinale (Lamb CR, 1996).

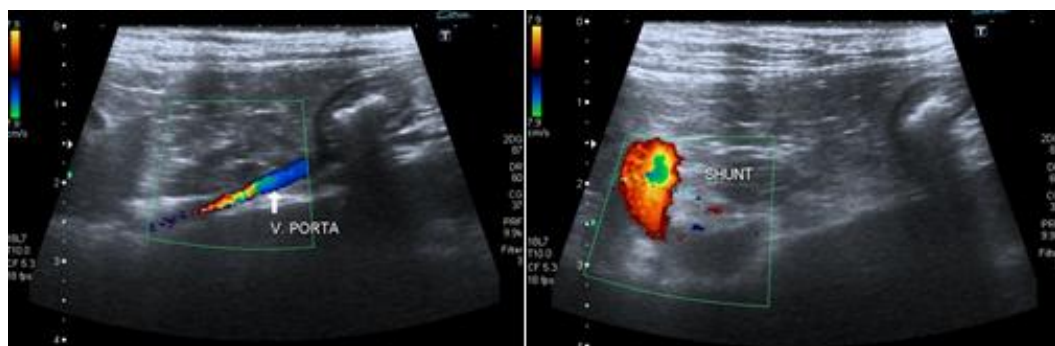


Figura 2.2 Immagini Ecocolordoppler grafiche. Vena porta e PSS extraepatico - Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" Univerità di Pisa – Per gentile concessione del Dott. Mannucci

L'ecografia Doppler con codice di colore permette, inoltre, di visualizzare la direzione del flusso di sangue, la turbolenza e la misurazione della velocità del flusso ematico portale. In caso di shunt portosistemico si osserva un aumento delle normale velocità di flusso portale (circa 15 cm/sec) che può essere dovuto alla riduzione alla resistenza al flusso craniale provocata dalla resistenza dello shunt. L'ecografia risulta utile anche per rilevare la presenza di uroliti all'interno dell'apparato urinario.

2.7.2 TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA

La tomografia computerizzata (TC) è considerata la più informativa tra tutte le tecniche di diagnostica per immagine nella medicina veterinaria per lo studio del sistema portale. Consente infatti di confermare la diagnosi di shunt portosistemico mettendo in evidenza anche i vasi di difficile visualizzazione all'esame ecografico e di ottenere ricostruzioni biplanari o tridimensionali utili per la valutazione pre-operatoria, permettendo un reperimento più rapido del vaso in fase intraoperatoria.

L'esame TC deve essere condotto in anestesia generale con paziente intubato e

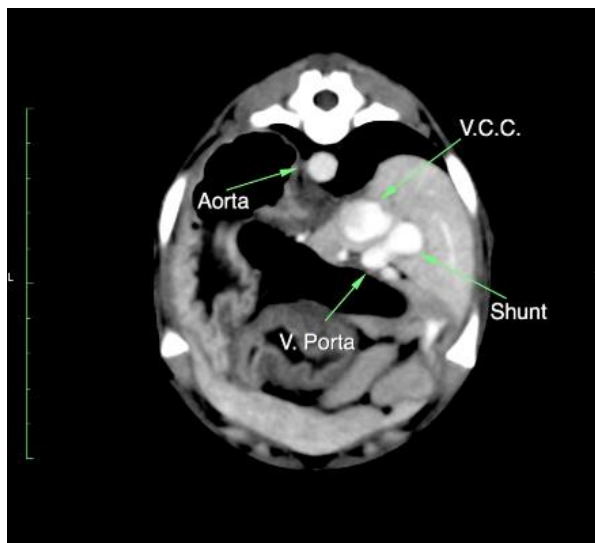


Figura 2.3 Angiotomografia computerizzata. Si noti il mezzo di contrasto all'interno di vena porta, PSS intraepatico e vena cava caudale - Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" Università di Pisa – Per gentile concessione del Dott. Mannucci

monitorato, posto in decubito sternale ed arti estesi. La scansione viene effettuata dall'area cardiaca all'addome caudale, iniziando con una scansione diretta seguita da più scansioni effettuate con mezzo di contrasto iodato non ionico per studiare la vascolarizzazione epatica sia in fase arteriosa che in fase venosa. Per garantire che l'esame sia diagnostico, viene effettuato un primo studio che

consente di valutare i tempi di perfusione nel soggetto in esame, iniettando una piccola quantità di mezzo di contrasto (circa 185 mg/kg) ed eseguendo una scansione che permetta di ottenere un'immagine al secondo in un medesimo punto dell'addome in cui è possibile visionare i principali vasi (aorta, vena cava caudale e vena porta). Le immagini vengono quindi utilizzate per costruire delle curve di perfusione dei tre vasi e programmare la scansione finale, che viene eseguita con una quantità superiore di mezzo di contrasto (circa 800 mg/kg) iniettato con pompa a infusione con velocità di 5ml/min. Si effettua una prima scansione durante la fase arteriosa con direzione caudo-craniale ed una seconda in fase venosa con direzione cranio-caudale. Gli shunt portosistemici si visualizzano in fase venosa.

2.7.3 ALTRE INDAGINI

Esistono altre metodiche di diagnostica per immagini delle malformazioni vascolari epatiche, che tuttavia non vengono utilizzate routinariamente in medicina

veterinaria e comprendono:

- **SCINTIGRAFIA:** metodo rapido e non invasivo che si avvale dell'utilizzo di radiofarmaci infusi per via rettale. Il radioisotopo viene assorbito dalle vene coliche, che drenano nelle vene mesenteriche e poi nella vena porta. Quando è presente uno shunt portosistemico, il radiofarmaco passa direttamente dal sistema portale al cuore, bypassando il fegato dove arriva successivamente attraverso la circolazione arteriosa. Dopo la somministrazione colonica di sodio partecnetato Tc99m si compara il tempo trascorso da quando si rileva inizialmente attività nella regione epatica con il tempo di rilevazione dell'attività nella regione cardiaca. Gli animali con intervalli di tempo fegato-cuore superiore a due secondi sono considerati clinicamente normali. Talvolta gli esami effettuati negli animali molto piccoli possono essere difficili da interpretare a causa della stretta prossimità del fegato e del cuore ed occasionalmente le indagini devono essere ripetute se il radioisotopo non viene rapidamente assorbito nel colon. La scintigrafia nucleare presenta alcuni limiti: l'utilizzo di un prodotto radioattivo impone l'isolamento dell'animale per almeno 24 ore e non fornisce informazioni sulla morfologia e la sede dello shunt.

Recentemente è stata descritta una nuova metodica scintigrafica (Cole et al., 2005; Morandi et al., 2005), la scintigrafia portale trasplenica. Questa tecnica utilizza la guida ecografica per iniettare una piccola quantità di Tc-99m nel parenchima della milza. La fase dinamica della visualizzazione del drenaggio della vena splenica consente di ottenere un'angiografia nucleare del sistema portale ed è utile per individuare la presenza di shunt extraepatici singoli o multipli. Un vantaggio di questa metodica è che si utilizza una quota di radioattività molto piccola, per cui l'animale può essere dimesso poco dopo la procedura.

- **RISONANZA MAGNETICA:** è stata utilizzata in uno studio (Seguin B et al., 1999) con tecnica angiografica per visualizzare il sistema portale di cani con PSS ma attualmente non viene ancora utilizzata routinariamente con

questo scopo.

- **PORTOGRAFIA:** può essere utilizzata in sede intraoperatoria mediante cateterizzazione di una vena mesenterica o splenica, per valutare la morfologia della vascolarizzazione portale, confermare la localizzazione di uno shunt macrovascolare difficile da trovare e per misurare le pressioni portali durante la manipolazione dello shunt. Richiede dunque l'esecuzione di una laparotomia e la disponibilità di un'unità radiografica portatile.
- **ECOGRAFIA CON MEZZO DI CONTRASTO:** prevede l'iniezione di una piccola quantità di mezzo di contrasto contenente microbolle in una vena periferica che viene visualizzato grazie a particolari sistemi che consentono di sopprimere il segnale ultrasonoro prodotto dal parenchima e visualizzare solamente quello prodotto dal mezzo di contrasto.

2.8 Istopatologia

La maggior parte dei cani con shunt portosistemico presenta modificazioni microscopiche del fegato quali: lieve o moderata atrofia epatocellulare, ipoplasia delle vene portali tributarie, proliferazione delle arteriole, lipidosi, ipertrofia della muscolatura liscia, linfangectasia dei linfatici attorno alla vena centrale, ipertrofia delle cellule di Ito ed emosiderosi e ipertrofia delle cellule di Kupffer (Parker JS et al., 2008). Alcuni soggetti mostrano inoltre moderata fibrosi ed altri lievi segni di necrosi o infiammazione. Nello studio di Parker JS et al. È stata anche valutata la connessione tra istopatologia e prognosi in cani con shunt portosistemico intra- ed

extra-epatico senza trovare un'associazione statistica significativa tra caratteristiche istopatologiche e tempi di sopravvivenza.

CAPITOLO 3

SHUNT PORTOSISTEMICO: **APPROCCIO TERAPEUTICO**

3.1 Trattamento medico

Il solo trattamento medico può essere preso in considerazione nei cani con PSS asintomatici nei quali la patologia è stata diagnosticata accidentalmente e nei soggetti anziani che presentano segni clinici di lieve entità. Risulta perciò necessario valutare da un lato il tasso di mortalità del 7% riportato in letteratura legato alla chirurgia correttiva e dall'altro le probabilità che si verifichi un importante peggioramento clinico se non si ricorre all'intervento. In presenza di alterazioni istopatologiche come la fibrosi epatica è importante considerare la maggiore probabilità che si verifichino complicanze post-chirurgiche tra cui lo sviluppo di ipertensione portale ma anche la possibilità che il ripristino dei fattori epatotrofici

nel fegato nel periodo postoperatorio possa favorire il processo di rigenerazione epatica.

L'opzione chirurgica risulta quindi essere il trattamento di scelta; tuttavia deve essere preceduta da un periodo di terapia medica finalizzata ad identificare e correggere i fattori predisponenti all'encefalopatia epatica e a diminuire il danno ossidativo a carico degli epatociti. La terapia di sostegno generale del paziente con encefalopatia epatica comprende la fluidoterapia con soluzione fisiologica isotonica o emitonica con aggiunta di destrosio al 2,5%, importante in cani incapaci di assumere liquidi per os o fortemente disidratati a causa della perdita di fluidi dall'apparato gastroenterico. La normalizzazione dello stato acido-base e, se necessario, l'integrazione con potassio per mantenere normali valori di kaliemia risultano importanti per non aggravare l'encefalopatia epatica (Broom CJ et al., 2004). Altrettanto rilevante, soprattutto nei cuccioli, che hanno scarse riserve di glicogeno e limitata gluconeogenesi, è l'integrazione di glucosio endovena.

Nei cani encefalopatici colpiti da crisi convulsive deve essere considerata la somministrazione di Levetiracetam, un antiepilettico indicato nel trattamento delle crisi parziali che agisce sui livelli di calcio neuronale riducendo il rilascio del catione dai siti intraneuronali di deposito. Inoltre si lega ad una specifica proteina della vescicola sinaptica coinvolta nel rilascio dei neurotrasmettitori. L'inibizione dei canali del calcio presinaptici si ritiene impedisca la conduzione dell'impulso comportando così una stabilizzazione dell'attività elettrica del tessuto cerebrale, prevenendo così le crisi convulsive.

Il lattulosio è un disaccaride impiegato nel trattamento dell'encefalopatia epatica come coadiuvante della metabolizzazione dell'ammoniaca, in quanto ostacola la crescita dei batteri che la producono. Agisce anche aumentando l'acidità colica, favorendo in tal modo la conversione dell'ammoniaca in ione ammonio, che quindi rimane all'interno del lume intestinale senza essere assorbito. Infine, essendo un catartico osmotico, determina aumento della peristalsi intestinale e favorisce l'eliminazione dei metaboliti dell'ammoniaca, la sua diluizione nel lume enterico e l'abbassamento dei livelli di ammoniemia.

Per ridurre la flora batterica intestinale, e quindi la produzione di ammoniaca, e per diminuire il rischio di sovrainfezioni batteriche, viene prescritta una terapia antibiotica. A questo scopo si usa spesso la Neomicina, soprattutto in forma associata con Bacitracina. Entrambi, assunti per os, vengono scarsamente assorbiti nel tratto gastroenterico, raggiungendo il lume intestinale a concentrazioni tali da garantire un'azione battericida diretta nei confronti di Gram-positivi e Gram-negativi e anche di protozoi. Questo farmaco deve essere tuttavia evitato negli animali iperazotemici.

Altri antibiotici che vengono utilizzati in associazione sono Spiramicina e Metronidazolo, che mostrano un ampio spettro d'azione potenziato dal sinergismo tra i due principi attivi. Il primo, infatti, possiede azione antinfettiva verso i germi Gram-positivi, Rickettsie e Micoplasmi inibendone la sintesi proteica; il secondo inibisce invece la sintesi degli acidi nucleici di anaerobi, protozoi, e diverse specie di Gram-positivi e Gram-negativi.

In alternativa è ancora possibile somministrare un antibatterico penicillinico come l'Amoxicillina che inibisce la sintesi di parete, reperibile in commercio anche in associazione all'Acido clavulanico, un inibitore delle penicillinasi.

Per ridurre il rischio di encefalopatia epatica è anche importante correggere l'eventuale sanguinamento enterico con la somministrazione di Sucralfato, un farmaco antiacido che agisce sulla parete gastroduodenale fungendo da barriera fisica ed impedendone quindi il contatto con l'acido cloridrico. Stimola anche la produzione di prostaglandine e quindi, in seconda battuta, quella di muco.

Nei soggetti con HE, in associazione alla terapia farmacologica, deve essere prescritta una dieta altamente digeribile e a ridotto tenore proteico e si devono offrire pasti piccoli e frequenti al fine di limitare i processi catabolici. La quantità delle proteine viene gradualmente aumentata ad intervalli settimanali o quindicinali quando il cane diviene neurologicamente asintomatico. È necessario monitorare i livelli sierici delle proteine per prevenire con ogni misura l'ipoalbuminemia. Anche la qualità e l'origine delle proteine sono importanti. Di solito si ritiene che le proteine di origine animale abbiano una qualità più elevata

di quelle di derivazione vegetale, ma gli isolati della soia, il glutine di frumento ed i prodotti lattiero-caseari vengono tollerati meglio nei pazienti umani con encefalopatia epatica e ciò può essere probabilmente traslato anche nel cane (Strombeck et al., 1983).

Il potenziale vantaggio delle proteine vegetali è attribuito al loro elevato contenuto di fibre, che determina una riduzione del tempo di transito e promuove l'incorporazione e l'escrezione dell'azoto nei batteri fecali, mentre l'effetto dei prodotti caseari è probabilmente dovuto all'influenza del lattosio su transito e pH intestinale (Center, 1988). Lo scopo è quindi quello di mantenere normali livelli di assunzione proteica così da assicurarne un bilancio positivo e consentire la rigenerazione epatica, senza scatenare la comparsa dei segni dell'encefalopatia epatica. I soggetti con segni gastroenterici come la diarrea, possono ricevere dei probiotici. La terapia medica prevede anche l'utilizzo di alimenti complementari differenti a seconda della sintomatologia del paziente e che spesso hanno azione epato-protettiva e/o antiossidante. Sono disponibili in commercio alimenti complementari in compresse contenente Silimarina, MOS (mannano oligosaccaridi, attivatori del sistema immunitario aspecifico) e Fosfatidilcolina. Tali preparati agiscono direttamente a livello epatocitario: aumentano la disponibilità di glutathione favorendo così la detossificazione del fegato, la sintesi di RNA-ribosomiale e quindi anche quella proteica, che a sua volta favorisce la rigenerazione epatica, ed il metabolismo basale, valido aiuto per stimolare l'appetito del soggetto. Possiedono inoltre un'azione normolipemizzante ed infine stimolano la sintesi dell'enzima superossidodismutasi (SOD) che protegge i lipidi di membrana cellulare e ribosomiali, impedendone quindi l'alterazione che si verifica in caso di degenerazione epatica da stress ossidativi.

Altro integratore alimentare indicato per il supporto della funzionalità epatica è quello a base di S-Adenosilmetionina (SAME) e silimarina. Per quanto riguarda il SAME, si tratta di un enzima precursore del glutathione, un importante antiossidante epatico, del quale quindi favorisce la produzione endogena. La silimarina, invece, si ritiene essere responsabile dell'eliminazione dei radicali liberi

e di un effetto protettivo degli epatociti verso molti tipi di tossine (Twedt, 2004). Nei soggetti che presentano coagulopatie può essere somministrato un alimento complementare contenente vitamina K, L-carnitina che favorisce l'assorbimento della vitamina stessa e che facilita l'ingresso degli acidi grassi a lunga catena all'interno dei mitocondri dove sono ossidati per produrre energia, e Fosfatidilcolina che accelera l'assorbimento della vitamina. Per il trattamento, invece, dell'anemia sintomatica si ricorre all'utilizzo di epoetine (come la Darbepoetina Alfa), composti di sintesi ad azione eritropoietina-simile.

3.2 Trattamento chirurgico

3.2.1 INDICAZIONI PER L'ANESTESIA

Quando si anestetizza un animale affetto da shunt portosistemico si deve procedere con estrema cautela poichè, a causa della minore funzionalità epatica e delle alterazioni della vascolarizzazione del fegato, l'assorbimento, il metabolismo e la clearance dei farmaci sono notevolmente ridotti. Inoltre, i farmaci con elevato legame proteico sono influenzati dall'ipoalbuminemia che può accompagnare gli PSS, con conseguente aumento della frazione libera di farmaco circolante.

L'encefalopatia epatica determina maggiore sensibilità dei recettori per gli oppioidi; in questi soggetti, quindi, si assiste al potenziamento degli effetti di questa classe di analgesici (Zaneroli ML et al., 1995). Pertanto, l'impiego di oppioidi può essere giustificato a patto di una riduzione drastica della dose, preferendo quelli a rapida azione e possibilmente non a metabolizzazione epatica, come il

remifentanil. Infatti, grazie alla sua peculiare struttura chimica, il remifentanil subisce un metabolismo organo-indipen-

dente e il fatto che venga metabolizzato per oltre il 90% in sede extraepatica lo rende l'analgesico di prima scelta nei pazienti con compromissione della funzionalità del fegato.

Per quanto riguarda l'induzione è consigliabile utilizzare il propofol poiché subisce processi di inattivazione epatica ed extraepatica; studi recenti indicano, infatti, un'attività metabolica da parte di rene, cervello, intestino, polmone e cute. Bisogna tuttavia tenere presente che la sua clearance può essere alterata a causa del suo effetto inotropo negativo che porta ad una riduzione della gittata cardiaca e del flusso portale ed arterioso epatico, ed al suo effetto vasodilatante a livello della circolazione splenica che comporta uno stato di ipovolemia relativa con ulteriore riduzione del flusso epatico totale. In alcuni pazienti può essere necessario un supporto con amine simpaticomimetiche come dobutamina o dopamina.

Quando la conformazione del muso dell'animale permette un corretto adattamento alla maschera, è da preferire l'induzione in maschera con sevoflurano veicolato in ossigeno, che presenta un basso coefficiente di solubilità e quindi determina induzione e risveglio più rapidi rispetto all'isoflurano ed incide solo marginalmente sul metabolismo epatico.

Il mantenimento viene garantito con sevofurano o isoflurano e con l'infusione di remifentanil.

È importante nel periodo perioperatorio eseguire un attento monitoraggio della temperatura corporea e della glicemia, ricordando che spesso ci si trova di fronte a pazienti pediatrici quindi particolarmente sensibili a condizioni di ipotermia a causa dell'esigua quantità di grasso corporeo e dello svantaggioso rapporto superficie corporea/peso. L'ipotermia in corso di anestesia è una delle possibili cause di bradicardia che induce riduzione della gittata cardiaca e conseguente ipotensione e prolungamento dei tempi di risveglio per rallentata eliminazione

dell'anestetico.

La glicemia deve essere controllata in quanto i pazienti con PSS possono avere ridotte scorte epatiche di glicogeno e quindi necessitare del trattamento endovenoso con destrosio oppure con soluzioni ipertoniche di glucosio.

3.2.2 TECNICHE CHIRURGICHE

La chirurgia è il trattamento di scelta per lo shunt congenito portosistemico. Negli anni, in letteratura, sono state riportate numerose tecniche volte a ridurre l'entità dello shunt stesso così da ripristinare una circolazione fisiologica del fegato. Le principali tecniche descritte includono: legatura totale o parziale con filo da sutura, occlusore idraulico, costringitore ameroide, cellophane bands ed embolizzazione intravascolare mediante spirali (coil).

Tutti i metodi elencati, ad eccezione dell'ultimo, prevedono il posizionamento dell'animale in decubito dorsale e l'esecuzione di una laparotomia standard sulla linea alba, iniziando l'incisione dalla cartilagine xifoidea e proseguendo in direzione caudale.

3.2.2.1 LEGATURA CON FILO DA SUTURA

La legatura del vaso con filo da sutura è una tecnica datata e oramai in disuso legata tra l'altro a numerose possibili complicazioni intra- e post-operatorie.

I cani senza segni di encefalopatia epatica possono tollerare una legatura completa dello shunt, tuttavia in letteratura viene riportato che più dell'80% dei soggetti sottoposti a occlusione acuta dello shunt richiedono un'attenuazione parziale (Kummeling A et al., 2004).

La tecnica prevede l'identificazione del vaso anomalo, il suo isolamento ed il

passaggio attorno ad esso di un filo da sutura non riassorbibile, generalmente in seta, in prossimità del suo ingresso nella vena sistemica.

Si esteriorizza un segmento di digiuno e si inserisce un catetere con mandrino nella vena digiunale per ottenere le pressioni portali di base. Occludendo temporaneamente lo shunt si dovrebbe osservare un rapido aumento della pressione portale, che aiuta a confermare la corretta identificazione del vaso. A questo punto si procede con il lento restringimento della legatura mentre si controlla la pressione portale. L'occlusione totale è possibile se non vengono superati valori di pressione portale postlegatura di 10 cmH₂O rispetto a quelli basali oppure, più in generale, i 20-23 cmH₂O e se la pressione venosa centrale non decresce di oltre 1 cmH₂O (Tobias KM, 2003).

Si possono inoltre osservare i visceri per 5-10 minuti, al fine di rilevare segni soggettivi di ipertensione portale postlegatura, fra cui congestione splenica, pallore dell'intestino, cianosi pancreatico, vasi duodenali distesi e pulsanti ed aumento della peristalsi intestinale (Mathew K e Grofton N, 1988). Quando si presentano segni oggettivi o soggettivi di ipertensione, la legatura deve essere allentata fino alla scomparsa degli stessi.

La tecnica ha il vantaggio di utilizzare materiali facilmente reperibili ed economici ma diverse indagini riportano la necessità di ricorrere a più interventi chirurgici per completare l'occlusione vascolare (Lipscomb et al., 2007) e spesso l'attenuazione del lume vasale in modo non progressivo determina alterazioni del flusso ematico che predispongono all'insorgenza di shunt epatici secondari. Un ulteriore svantaggio risiede, inoltre, nella necessità di dover misurare e valutare la pressione portale intraoperatoria.

La legatura in seta, ad oggi, è stata sostituita da tecniche che possono essere eseguite con un singolo intervento, senza misurazione della pressione e con occlusione progressiva dello shunt.

3.2.2.2 OCCLUSORE IDRAULICO



Figura 3.1 Occlusore idraulico -
<http://cms.scivac.it/it/editoria/atti-congressuali>

L'occlusore idraulico è stato utilizzato per l'attenuazione graduale dello shunt portosistemico intraepatico (Adin CA et al., 2006) e consiste in un manicotto di silicone e poliestere gonfiabile che dopo essere stato posizionato attorno al vaso e

viene chiuso ad anello con materiale da sutura attraverso i buchi presenti su ognuna delle sue due estremità. Questo è collegato, attraverso un tubicino, ad una porta di iniezione che viene inserita in sede sottocutanea. Dopo la chirurgia, attraverso la porta, viene iniettata una piccola quantità di soluzione salina ogni due settimane per gonfiare gradualmente l'occlusore comportando una progressiva compressione fisica del vaso che dovrebbe completarsi in circa 6-8 settimane (Adin CA et al., 2006).

Presenta numerosi vantaggi, tra i quali la possibilità di essere posizionato con un solo intervento chirurgico senza misurazione della pressione portale ed il conseguimento di un'occlusione da parziale a totale, reversibile in caso di complicazioni attraverso la via percutanea. Tuttavia l'occlusore idraulico è un dispositivo costoso che, dovendo restare in posizione per un periodo molto prolungato, può andare incontro a danneggiamento per perdite dell'impianto e diffusione delle soluzioni di riempimento con conseguente perdita dell'occlusione dello shunt. Per questi motivi non trova largo impiego nella pratica veterinaria.

3.2.2.3 COSTRITTORE AMEROIDE

Il costringitore ameroide è un dispositivo formato da un anello interno di sostanza ameroide e un rivestimento esterno in acciaio inox. L'amerioide è una sostanza igroscopica che si gonfia lentamente assorbendo i fluidi corporei, riducendo il diametro interno del costringitore di circa il 32% (SeredaCW e Adin CA, 2005). L'ulteriore occlusione dello shunt si verifica in seguito alla fibrosi vascolare e alla trombosi intravascolare conseguente alla risposta infiammatoria.

Esiste tuttavia una variabilità sostanziale in base alla velocità di occlusione del vaso anomalo prodotta dal costringitore ameroide (Besancon et al., 2003) che può dipendere da diversi fattori: le dimensioni del vaso, le dimensioni del costringitore ameroide e la risposta infiammatoria individuale del paziente. Nei vari studi vengono infatti riportati tempi di occlusione molto diversi



Figura 3.2 Costringitore Ameroide – Fossum TW
Chirurgia dei piccoli animali, Terza Edizione -
Elsavier

tra loro che variano da 6 a 120 giorni. In alcuni studi l'occlusione troppo rapida dello shunt ha causato lo sviluppo postoperatorio di shunt portosistemici multipli acquisiti nel 40% di cani con PSS intraepatico (Kyles AE et al., 2001) e nel 17% di cani con PSS extraepatico (Vogt JC et al., 1996). Inoltre, il dispositivo risulta essere piuttosto ingombrante e pesante e quindi potrebbe provocare l'inghinocchiamento del vaso ed ostruirne il flusso prematuramente.

In seguito a laparotomia secondo tecnica sulla linea alba, e l'identificazione dei vasi addominali che si congiungono a vena porta e vena cava caudale e dello shunt, la procedura chirurgica prevede la dissezione del tessuto connettivo che circonda il vaso anomalo, per permettere l'inserimento del dispositivo, senza tuttavia liberare un'area troppo ampia in prossimità del vaso che permetterebbe il movimento dell'amerioide ed un attorcigliamento prematuro del vaso. Anche la dimensione dell'anello deve essere scelta con cura, in quanto deve adattarsi al vaso senza comprometterne il lume e non deve avere dimensioni eccessive per evitarne lo strozzamento. A questo punto si inserisce il vaso nell'apertura dell'amerioide in

modo da alloggiarlo nello spazio circolare interno del dispositivo. Se è necessario si possono posizionare diverse anse di sutura polifilamento di piccolo calibro attorno al vaso ed utilizzarle per appiattirlo e facilitarne quindi la manipolazione. Una volta alloggiato il vaso all'interno dell'amerioide, si inserisce la chiave nell'apposita fessura del dispositivo. È importante successivamente valutare milza ed intestino per la possibile comparsa di congestione, segni di ipertensione portale.

Soprattutto se paragonato alle precedenti metodiche chirurgiche descritte, il costrittore ameroide ha mostrato di avere numerosi vantaggi comprendenti: riduzione delle tempistiche intraoperatorie, non sono richieste la misurazione della pressione portale nè manipolazioni postoperatorie, le complicazioni secondarie sono inoltre notevolmente ridotte in percentuale (Hurn SD e Edwards GA, 2003).

Gli svantaggi includono la necessità di una maggior area di dissezione, la possibile difficoltà nel passaggio del dispositivo attorno al vaso e nel suo impiego per shunt portosistemici intraepatici, le differenti velocità di occlusione del vaso, la possibilità di determinare ipertensione portale acuta e lo sviluppo di shunt multipli acquisiti.

3.2.2.4 SPIRALI TROMBOGENICHE (TROMBOGENIC COILS)

L'embolizzazione intravascolare mediante spirali trombogeniche è una tecnica di radiologia interventistica, eseguita perciò con l'utilizzo di un intesificatore di brillanza, che prevede il posizionamento di materiale trombogenico nel lume del vaso anomalo attraverso un accesso venoso percutaneo dalla vena giugulare. I coils sono costituiti da una fascia flessibile in acciaio inox o platino e da fibre in poliestere che simulano lo sviluppo di un trombo e quindi la formazione e l'organizzazione di un coagulo che interrompe il flusso sanguigno attraverso la via porta-cava.



Figura 3.3 Trombogenic coils – da www.birthmarkus.us

I primi studi per l'attenuazione dello shunt portosistemico, che non consideravano l'impiego di uno stent in vena cava caudale, sono stati condotti per ottenere l'occlusione degli PSS intraepatici, per i quali risulta più complicata l'esecuzione delle tecniche tradizionali considerando l'interposizione del parenchima epatico. Solo successivamente è stata destinata anche a quelli extraepatici. I problemi maggiori consistevano nel fallimento della procedura nel produrre

un'occlusione totale dello shunt, nella necessità di ripetere più volte la procedura e nella migrazione dei coils fino alle arterie polmonari (Partington BP et al., 1993). Quest'ultima complicazione, che può comportare la morte dell'animale, è risultata essere più frequente nei soggetti con shunt portosistemico extraepatico (Laveille R et al., 2003), probabilmente per la mancanza di supporto attorno al vaso fornita dal parenchima epatico.

Tramite accesso giugulare viene inserita una guida metallica che viene fatta avanzare in vena cava craniale e successivamente in atrio destro, quindi in vena cava caudale. In seguito si inserisce un catetere con il quale si posiziona uno stent autoespandibile nella vena cava caudale per prevenire la migrazione delle spirali

dallo shunt. Per il posizionamento dei coils, il catetere viene fatto passare attraverso lo stent e, ad intervalli regolari, prima del rilascio di ogni spirale, viene iniettato un piccolo quantitativo di contrasto per valutare la riduzione del flusso sanguigno attraverso lo shunt. La procedura si considera terminata quando i coils occupano più del 75% del diametro luminale. Nel caso in cui il mezzo di contrasto permane nel sistema portale per più di tre secondi, e quindi la riduzione del flusso è eccessiva, si preferisce effettuare un'attenuazione minore del 75%. A questo punto la guida e il catetere possono essere rimossi (Bussadori R et al., 2007).

I potenziali vantaggi dell'embolizzazione intravascolare mediante spirali trombogeniche includono la minor invasività della procedura e la riduzione dei tempi anestesilogici e di ricovero (Partington BP et al., 1993). Tuttavia, la possibilità della migrazione dei coils o dello sviluppo di ipertensione portale in seguito alla formazione troppo rapida del trombo oppure in soggetti con grave insufficienza epatica, la necessità di disporre di strumentazione particolare, l'impossibilità di ottenere campioni biotici e di valutare lo stato degli organi addominali durante l'attenuazione, rendono questa tecnica poco utilizzata nella pratica veterinaria (Youmans KR e Hunt GB, 1999).

3.2.2.5 CELLOPHANE BANDS

Il cellophane è una pellicola sottile e trasparente costituita da idrato di cellulosa che è stata utilizzata per l'attenuazione dello shunt portosistemico extraepatico (Harari J et al., 1990; Youmans KR e Hunt GB, 1988) ed intraepatico (Hunt GB et al., 2000). Quando furono esaminati gli effetti di una banda di cellophane attorno ad un modello di vena femorale canina, fu riscontrata un'occlusione vasale progressiva e non completa in 5 vasi su 6, che venne attribuita ad un infiammazione acuta (Youmans KR e Hunt GB, 1999). Breznock suggerì l'uso del

cellophane per il trattamento del PSS nel 1979, ma il primo utilizzo nella clinica veterinaria risale al 1990 (Harari J et al., 1990), quando fu posizionato attorno ad uno shunt porto-azygos, praticando un'attenuazione del lume intraoperatoria del 50%. A distanza di 5 settimane dalla chirurgia, si evidenziò la remissione dei segni clinici e fu confermata, tramite portografia, l'occlusione completa del vaso.

Uno studio di Youmans e Hunt, eseguito su 11 cani con PSS extraepatico, ha mostrato un miglioramento clinico in tutti i pazienti ed un occlusione totale in 10 soggetti. Durante la chirurgia gli shunts erano stati ridotti fino ad un diametro interno di 2,5 o 3 mm.

Un'analisi più recente condotta su 106 cani trattati con la tecnica del cellophane banding ha mostrato una sopravvivenza con risoluzione delle anomalie del profilo biochimico nel 50% dei cani con PSS intraepatico e 84% di quelli con PSS extraepatico ed un tasso di mortalità del 3% e 27%, rispettivamente (Hunt GB et al., 2004).

In letteratura viene riportata, inoltre, l'applicazione del cellophane per il trattamento dello shunt portosistemico intraepatico in due Irish wolfhound (Connery NA et al., 2002). Nel primo caso, lo sviluppo postoperatorio di epilessia refrattaria al trattamento medico, ha visto la necessità di ricorrere all'eutanasia; nel secondo cane, invece, è stata riscontrata la regressione della sintomatologia nonostante la mancata chiusura totale dello shunt sei mesi dopo l'intervento chirurgico.

Per l'intervento chirurgico occorre preparare una fascetta sterile di cellophane lunga 10 cm e larga 1,2 cm e ripiegarla su se stessa longitudinalmente per tre volte in modo da ottenere una banda spessa e flessibile larga circa 4 mm.

Nel caso di PSS extraepatico, dopo aver eseguito la laparotomia mediana ed aver ispezionato la cavità addominale ed individuato lo shunt, si disseziona con delle forbici di Mtzenbaum il tessuto connettivo che circonda il vaso per permettere il posizionamento di una pinza ad angolo retto al di sotto dello shunt, con la quale si facilita il delicato passaggio del cellophane. La banda può essere fissata in uno dei seguenti due modi: causando un'ostruzione parziale dello shunt al momento

dell'inserimento (Hunt GB et al., 2004) oppure senza creare alcuna attenuazione. Quest'ultima tecnica risulta essere di più facile esecuzione, non necessita del monitoraggio della pressione portale e può portare ad un esito più favorevole della prima (Frankel D et al., 2006). La banda viene successivamente fissata con due o più emoclip e viene rimosso l'eccesso di cellophane praticando il taglio circa 1 cm distalmente ad esse.

La tecnica, applicata agli shunt intraepatici, risulta essere più complessa per la difficile localizzazione del vaso. A volte lo shunt viene identificato come una depressione palpabile o un'area cedevole in un lobo epatico, oppure lo si identifica quando penetra nella vena cava caudale se non è completamente circondato da parenchima epatico. Per ovviare tuttavia al problema, è possibile ricorrere all'esame ecografico intraoperatorio. Gli shunt intraepatici di sinistra, i più frequenti e solitamente più profondi, sono tipicamente localizzati nei lobi epatici laterale sinistro o mediale; quelli centrali si trovano nel mediale destro, mentre quelli di destra sono generalmente situati nei lobi laterale destro o caudato. Durante la chirurgia la sonda ecografica viene posizionata sul lobo epatico interessato, si prende visione della precisa localizzazione dello shunt ed il chirurgo procede utilizzando una combinazione di dissezione retta e smussa per isolare il vaso. A questo punto si posiziona, e successivamente si fissa, il cellophane attorno al vaso impiegando lo stesso metodo descritto per gli shunt extraepatici.

Il cellophane determina una lenta e progressiva occlusione vasale provocando un'iniziale reazione infiammatoria acuta seguita da una reazione tissutale cronica da corpo estraneo e quindi una fibrosi che si instaura attorno al vaso. Tale reazione si verifica in tempi più lunghi rispetto a quella determinata dai costrittori ameroidi e quindi viene ridotta l'incidenza dello sviluppo di shunt multipli acquisiti. Esiste però una variabilità nei tempi di occlusione dipendenti dalla risposta infiammatoria soggettiva, dalle dimensioni dello shunt e dalla larghezza della banda di cellophane che si utilizza. Un ulteriore vantaggio può risultare dal fatto che la dissezione da praticare attorno al vaso può essere meno estesa di quella che deve essere condotta per il posizionamento di un costrittore ameroide. Infine,

oltre ad essere di agevole applicazione, facilmente reperibile ed economica, la banda di cellophane è molto più leggera e flessibile e quindi il rischio di inginocchiamento o distorsione del vaso con conseguente ipertensione portale è minimo.

Nel 2011 Miller NA ha inoltre riportato la possibilità di effettuare il trattamento dello shunt portosistemico extraepatico con tecnica del cellophane banding in laparoscopia in modo molto simile alla tecnica open.

3.2.5 COMPLICAZIONI POSTOPERATORIE

Solitamente è possibile dimettere il paziente il giorno seguente la procedura chirurgica. Tuttavia possono verificarsi delle complicazioni, acute o croniche, in seguito all'attenuazione dello shunt.

Le complicanze acute includono: ipoglicemia refrattaria, tempi di recupero anestesilogici prolungati, emorragie, stati epilettici ed ipertensione portale.

L'ipoglicemia si verifica nel 44% dei cani dopo attenuazione di un PSS extraepatico ed è refrattaria alla somministrazione di destrosio nel 27% dei soggetti. In alcuni casi la somministrazione di desametasone si è rivelata efficace (Holford AL et al., 2008).

Lo sviluppo di crisi epilettiche può avvenire fino a 80 ore dopo la chirurgia e si verifica nel 5-12% dei cani dopo attenuazione dello shunt (Smith RR et al., 2013).

Se gli attacchi persistono il soggetto deve essere anestetizzato con un bolo di Propofol endovena e mantenuto in questo stato tramite infusione continua (CRI) di Propofol. Devono anche essere corretti gli squilibri elettrolitici e la glicemia. Può successivamente essere necessaria una terapia a lungo termine con anticonvulsivanti (Fenobarbitale). Per questi animali la prognosi è spesso infausta, i tassi di mortalità sono elevati e i soggetti che sopravvivono

generalmente continuano ad avere problemi neurologici.

Questa improvvisa alterazione delle funzioni cerebrali (necrosi cerebro corticale) è più frequente nelle razze canine di piccola taglia, la patogenesi è sconosciuta, ma con tutta probabilità una causa rilevante è rappresentata dall'aumento della pressione intracranica e dall'edema cerebrale. Per cercare di ridurre i danni cerebrali permanenti è bene operare un'immediata diuresi osmotica con Mannitolo. L'insorgenza di questa complicazione si rileva in forma di repentina comparsa di alterazioni dello stato mentale successivo a recupero post-operatorio inizialmente soddisfacente. Se non viene notata e trattata subito, conduce a segni neurologici severi simili a quelli riscontrati in corso di encefalopatia epatica, ma senza mutamenti periodici e senza essere accompagnata da iperammoniemia.

I segni clinici dell'ipertensione portale, che può essere fatale, comprendono: dolore e distensione addominale conseguenti ad ileo o ascite, diminuzione della pressione venosa centrale, tempo di riempimento capillare prolungato, pallore delle mucose, polso periferico debole, congestione splenica ed emorragie gastroenteriche (Tobias KM e Rohrbach BW, 2003). Dunque, se compaiono segni riferibili a shock endotossico, diarrea emorragica o improvviso aumento di volume della milza evidenziabile dalla parete addominale, è consigliabile effettuare un intervento in emergenza per rimuovere o attenuare l'occlusione precedentemente creata sul vaso anomalo. L'ascite è generalmente autolimitante e si risolve nell'arco di 1-3 settimane ma, se grave, si può ricorrere al trattamento con diuretici oppure al posizionamento di drenaggi addominali nel caso in cui l'animale si presenti dispnoico.

La complicazione cronica più comune conseguente all'attenuazione di shunt portosistemico è rappresentata dalla persistenza o ricomparsa dei segni clinici. Le cause sono da ricondurre a diverse possibili circostanze: flusso continuo attraverso lo shunt originario, presenza di un secondo shunt, sviluppo di shunt multipli acquisiti oppure presenza di un'ipoplasia epatica venosa congenita.

La comparsa di vasi collaterali portosistemici acquisiti è ascrivibile, nel 20% dei soggetti, ad una crescita epatica incompleta dopo la chirurgia (Kummeling A et al.,

2004).

3.2.6 TRATTAMENTO POSTOPERATORIO

Perchè avvenga l'attenuazione dello shunt sono necessarie alcune settimane ed il fegato necessita di tempo per rigenerarsi dopo il ripristino del normale flusso sanguigno epatico. Per questi motivi è importante continuare un trattamento medico che dovrebbe prevedere: una dieta proteino-restrictiva per almeno due mesi, a seconda dei valori degli acidi biliari pre- e post-prandiali, il lattulosio per 4-8 settimane, gli antiossidanti e gli epatoprotettori dovrebbero essere continuati per tutta la vita dell'animale.

3.2.7 PROGNOSI

Nei cani con PSS extraepatico il tasso di mortalità, riportato in letteratura, è pari al 2-32% dopo legatura con seta, 7% nel caso del costrittore ameroide e 6-9% per la tecnica del cellophane banding (Lee KCL et al., 2006). Nei cani con PSS intraepatico è invece rispettivamente pari a 6-23%, 9% e 27% (Hunt GB et al., 2004). La causa più comune di morte è rappresentata dalla persistenza dei segni neurologici ma può avvenire anche per emorragie intraoperatorie, coagulopatie postchirurgiche, ipertensione portale ed emorragie del tratto enterico. Nei cani che sopravvivono sono stati ottenuti ottimi risultati nel 84-94% degli animali sottoposti a chirurgia per PSS extraepatico ma la maggior parte ha continuato a mostrare acidi biliari sierici moderatamente aumentati (Kummeling A et al., 2004).

In seguito all'attenuazione chirurgica dei PSS intraepatici sono stati ottenuti risultati più variabili: esiti positivi sono stati osservati nel 70-89% dei cani trattati con l'anello ameroide (Bright SR et al., 2006), nel 76-100% di quelli sottoposti a

legatura con filo da sutura (Mehl ML et al., 2005) e nel 50% dei pazienti in cui è stato eseguito il cellophane banding (Bright SR et al., 2006).

In sintesi i cani sottoposti al trattamento chirurgico possono andare in contro a: chiusura dello shunt con miglioramento della circolazione sanguigna epatica, chiusura parziale o totale del vaso con ripresa della circolazione portale ma persistenza delle anomalie dei valori di laboratorio oppure sviluppo di ipertensione portale e shunts portosistemici multipli acquisiti.

In uno studio i cani sottoposti ad attenuazione chirurgica di PSS hanno mostrato remissione della sintomatologia clinica, tuttavia il 16% continuava ad evidenziare irregolarità degli esami di laboratorio (Hunt GB et al., 2004).

Nel 18-21% dei cani, lo shunt portosistemico non va in contro a chiusura completa. I fattori che sembrano essere significativi per prevedere il perdurare del PSS sono rappresentati da bassi livelli preoperatori di albumina, elevata pressione portale durante l'occlusione temporanea completa ed elevata differenza di pressione portale (Mehl ML et al., 2005). I fattori che consentono di prevedere il mancato successo dell'esito a lungo termine sono rappresentati da concentrazioni ancora più basse di albumina preoperatoria, elevato conteggio dei leucociti, elevata pressione portale misurata durante l'occlusione portale temporanea completa del PSS e crisi convulsive postoperatorie.

Come complicazioni comuni nel corso della correzione chirurgica di PSS intraepatici si riportano le emorragie, l'ipotensione e la congestione epatica acuta. L'ematocrito e le proteine totali possono essere indicatori prognostici positivi per la sopravvivenza a lungo termine, mentre il peso corporeo inferiore a 15 kg e i bassi livelli di proteinemia, albuminemia ed azotemia possono essere fattori prognostici negativi (Papazoglou LG et al., 2002).

CAPITOLO 4

CASISTICA PERSONALE

4.1 Materiali e metodi

Per questo studio abbiamo preso in considerazione 20 casi di cani affetti da shunt congenito portosistemico presentati presso il Centro Veterinario Pisani-Carli-Chiodo e presso l'Ospedale Didattico Veterinario „Mario Modenato“ del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Pisa nel periodo compreso tra luglio 2009 e marzo 2015, per essere sottoposti ad intervento di risoluzione con tecnica del cellophane banding.

I pazienti sono stati divisi in due gruppi, costituiti da 16 e 4 soggetti rispettivamente:

- Cani affetti da shunt portosistemico extraepatico (80%)
- Cani affetti da shunt portosistemico intraepatico (20%)

Come precedentemente evidenziato, la tecnica del cellophane banding è stata, negli anni, ampiamente descritta e discussa in letteratura per il trattamento della patologia extraepatica; tuttavia esistono pochi dati riferibili alla sua applicazione per i soggetti che presentano PSS intraepatico. Per la tendenza ad essere più superficiali all'interno del parenchima epatico, gli shunt intraepatici di destra sembrano essere più facilmente aggredibili attraverso la dissezione per via retta e smussa del parenchima epatico rispetto agli shunt posti nella porzione sinistra del fegato.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la possibilità di ricorrere alla tecnica del cellophane banding nei cani con shunt portosistemico intraepatico e di confrontare, con l'ausilio delle metodiche di laboratorio e di diagnostica per

immagine pre- e post-operatorie, l'efficacia del trattamento chirurgico nei due gruppi.

I soggetti della nostra popolazione appartenevano a razze diverse e l'età media al momento della comparsa dei segni clinici e della diagnosi di PSS era di 22 mesi (range 3 mesi- 6 anni).

La distribuzione delle diverse razze è riportata nella tabella seguente.

RAZZA	NUMERO SOGGETTI	PSS
Bassotto Tedesco	1	Extraepatico
Bolognese	1	Extraepatico
Braton	2	Intraepatico ed Extraepatico
Chihuahua	1	Extraepatico
Jack Russel Terrier	3	Extraepatico
Labrador Retriver	2	Intraepatico
Meticcio < 10 Kg	1	Extraepatico
Meticcio > 10 kg	1	Intraepatico
Pinscher	1	Extraepatico
Schnauzer Nano	1	Extraepatico
Shih Tzu	2	Extraepatico
WHWT	1	Extraepatico
Yorkshire Terrier	2	Extraepatico

Dalla tabella risulta inoltre evidente che, in linea con i dati riportati in letteratura, i cani di taglia piccola presentavano PSS extraepatico, mentre quelli di taglia grande-gigante presentavano PSS intraepatico.

Dodici dei soggetti in studio erano femmine, i restanti 8 erano maschi, due dei quali (25%) presentavano criptorchidismo, difetto congenito associato alla presenza di shunt fino al 50% dei cani (Mathews KG et al., 2005).

Tutti i soggetti si presentavano alla visita per il riscontro, da parte dei proprietari, di sintomatologia riferibile all'apparato gastroenterico, urinario e/o ad encefalopatia epatica. In particolare, 15 soggetti manifestavano disturbi gastroenterici quali, per esempio, vomito, diarrea (talvolta con ematochezia) e/o anoressia con conseguente ritardo di crescita nel caso di soggetti giovani o severo dimagrimento in quelli di età più avanzata; 18 cani manifestavano sintomatologia nervosa riferibile ad encefalopatia epatica con frequente rilevamento di anteropulsione, cecità, crisi epilettiche e collasso, debolezza, scialorrea e maneggio. Solamente 2 dei pazienti in studio manifestavano anche poliuria/polidipsia ed entrambi i soggetti erano affetti da shunt portosistemico intraepatico.

Successivamente alla visita clinica, sono stati valutati, in tutti i soggetti in studio, esame emocromocitometrico e profilo biochimico. Nel 100% della popolazione si riscontravano anemia, ipoalbuminemia, alterazione degli enzimi epatici, diminuzione dei livelli di urea e colesterolo ed un aumento dell'ammoniemia.

Considerati i rilievi ematochimici, veniva deciso di effettuare un test di funzionalità epatica ricorrendo, in alcuni casi alla misurazione degli acidi biliare pre- e post-prandiali, in altri alla valutazione degli acidi biliari urinari. Tale distinzione era dovuta alla diversa struttura in cui i pazienti erano in cura. In tutti i soggetti, comunque, gli acidi biliari si presentavano aumentati a conferma della presenza di una patologia epatica.

A fronte dei risultati della diagnostica di laboratorio, veniva presa la decisione di eseguire l'esame ecografico addominale in tutti i pazienti, attraverso il quale erano visualizzati un fegato di dimensioni soggettivamente ridotte e la presenza di un

vaso anomalo prima dell'ingresso nel parenchima epatico in caso di PSS extraepatico oppure all'interno dell'organo nei soggetti con shunt portosistemico intraepatico. Veniva quindi emessa diagnosi di shunt portosistemico congenito. Proseguendo lo studio ecografico della cavità addominale era possibile osservare, in 11 soggetti (55%), una vescica a contenuto ecogeno, riferibile a presenza di sedimento e/o litiasi: dato in linea con la possibile formazione di cristalli/calcoli di biurato di ammonio, per l'alterato circolo dell'urea nei pazienti affetti da tale patologia.

I pazienti erano quindi sottoposti a terapia medica con lattulosio ed antibiotici al fine di ridurre il quantitativo di ammoniaca in circolo e con epatoprotettori e antiossidanti per favorire la detossificazione del fegato; inoltre, i soggetti che presentavano ematochezia venivano sottoposti anche a terapia con Sucralfato. Infine, per ridurre ulteriormente il rischio di sintomatologia riferibile ad encefalopatia epatica veniva pianificata una dieta proteino-restrittiva nella totalità del campione in studio. La terapia era perseguita per un periodo di circa 2 settimane per stabilizzare i pazienti prima dell'intervento chirurgico.

Fondamentale è stato l'aiuto fornito dalle immagini angiotomografiche, che hanno permesso di precisare l'effettiva posizione, le dimensioni e il decorso del vaso anomalo. Nel caso di PSS extraepatici veniva ricostruita l'immagine tridimensionale dei vasi (vena porta, shunt e vena cava caudale), operazione essenziale per programmare la chirurgia. Questo infatti ci permetteva di studiare il caso e decidere dove posizionare la banda di cellophane, senza correre il rischio di compromettere la vascolarizzazione di altri organi. Altro vantaggio era quello della riduzione dei tempi intraoperatori, in quanto, conoscendo la posizione dello shunt, era più semplice e veloce la sua identificazione.

La ricostruzione 3D non era invece possibile negli shunt intraepatici a causa dell'interposizione del parenchima epatico; tuttavia l'angioTC consentiva di valutare la localizzazione, destro- o sinistro-posta, del vaso.

MATERIALI E METODI PER LA CHIRURGIA

Per eseguire l'intervento era necessaria una trousse chirurgica adeguata per le dimensioni del paziente contenente: strumenti per la delimitazione del campo operatorio (Backhaus), strumenti per la dieresi dei tessuti molli (manici di bisturi, forbici a punta acuta-smussa, forbici da dissezioni di Matzenbaum o Mayo, forbici da sutura), pinze tissutali (anatomiche e chirurgiche), pinze emostatiche, portaaghi e l'elettrocoagulatore bipolare.

Oltre alla strumentazione classica, si rendeva necessario disporre di una banda di cellophane, imbustata e sterilizzata in autoclave. Al momento della chirurgia veniva tagliata e piegata secondo tecnica per ottenere le dimensioni necessarie al suo posizionamento attorno allo shunt.

Per la fissazione della fascetta venivano utilizzate due o più emoclip e le apposite pinze adibite alla loro applicazione.



Figura 4.1 Pinze ad angolo retto con banda di cellophane ripiegata e pronta per l'applicazione attorno allo shunt – Ospedale Didattico Veterinario „Mario Modenato“ dell'Università di Pisa

Figura 4.2 Emoclip e pinza per la loro applicazione – Ospedale Didattico Veterinario „Mario Modenato“ dell'Università di Pisa

TECNICA CHIRURGICA

Cellophane banding dello shunt portosistemico extraepatico

In seguito al corretto

posizionamento del paziente e all'adeguata preparazione del campo operatorio, veniva eseguita una laparotomia sagittale mediana a partenza dal processo xifoideo che si continuava caudalmente fino ad oltrepassare la cicatrice ombelicale.



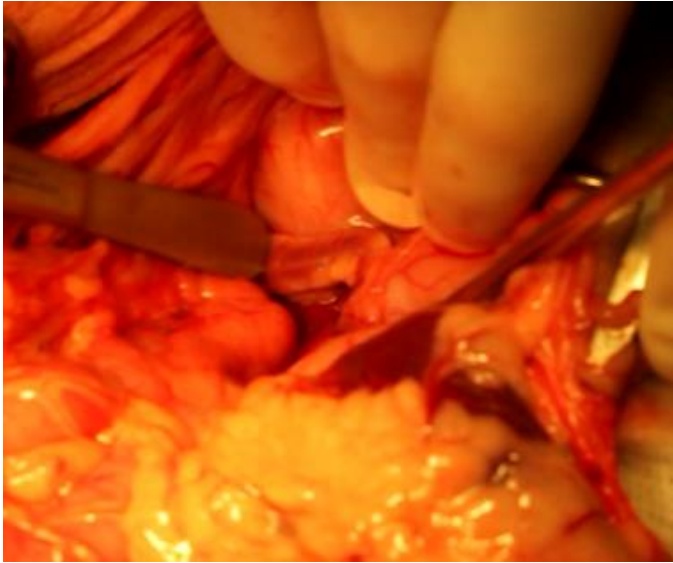


Figura 4.3 Identificazione dello shunt extraepatico nella cavità addominale – Centro Veterinario Pisani-Carli-Chiodo – Per gentile concessione del Dott. Pisani

Si ispezionava la cavità addominale per valutare lo stato generale dei visceri e, in base a quanto precedentemente appreso dalle immagini TC, si andava a ricercare il vaso anomalo. Una volta individuato lo shunt, si procedeva eseguendo una piccola dissezione del tessuto connettivo che lo

circondava: questa operazione aveva lo scopo di creare lo spazio nel quale sarebbe stato introdotto il cellophane.

Si proseguiva con la preparazione della banda di cellophane che era tagliata al fine di ottenere le giuste dimensioni: circa 10 cm di lunghezza e circa 1,2 cm per la larghezza. Veniva quindi ripiegata in terzi sul suo lato longitudinale; la larghezza finale era dunque di circa 4 mm.

Con una pinza ad angolo retto, che veniva inserita al di sotto del vaso anomalo, si afferrava un'estremità della banda di cellophane e si procedeva con il suo scorrimento attorno al vaso.

Per quanto riguarda la fissazione ad anello del cellophane attorno allo shunt, in alcuni pazienti veniva prodotta un'attenuazione parziale intraoperatoria (del 20%,

40%, 50% oppure 60%), mentre in altri soggetti si adagiava attorno allo shunt senza la creazione di alcuna parziale occlusione, onde evitare qualsiasi problematica

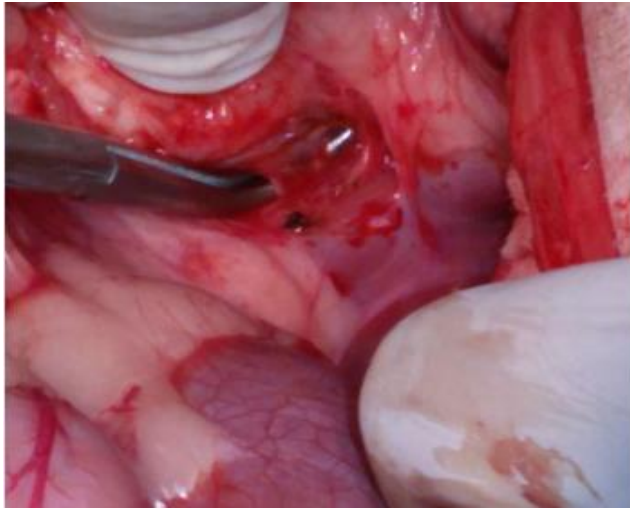


Figura 4.4 Pinza ad angolo retto posizionata al di sotto dello shunt
– Ospedale Didattico Veterinario „Mario
Modenato“ dell’Università di Pisa

collegata all’insorgenza di ipertensione portale. Venivano quindi applicate emoclip in numero variabile da 2 a 4. Veniva quindi tagliata l’eccedenza di cellophane a distanza di circa 1 cm dalle clip. Si visionavano pancreas, milza ed intestino per circa 5-10 minuti al fine di escludere ogni possibile iniziale reazione

circolatoria quali ipertensione venosa addominale associabile alle problematiche acute intraoperatorie. In assenza di queste, era quindi possibile procedere con la sutura delle fasce muscolari e della cute secondo tecnica.

Cellophane banding dello shunt portosistemico intraepatico.

La tecnica per l'accesso alla cavità addominale era la stessa che veniva eseguita per i soggetti affetti da PSS extraepatico.

Dopo aver ispezionato gli organi addominali si individuava il lobo epatico

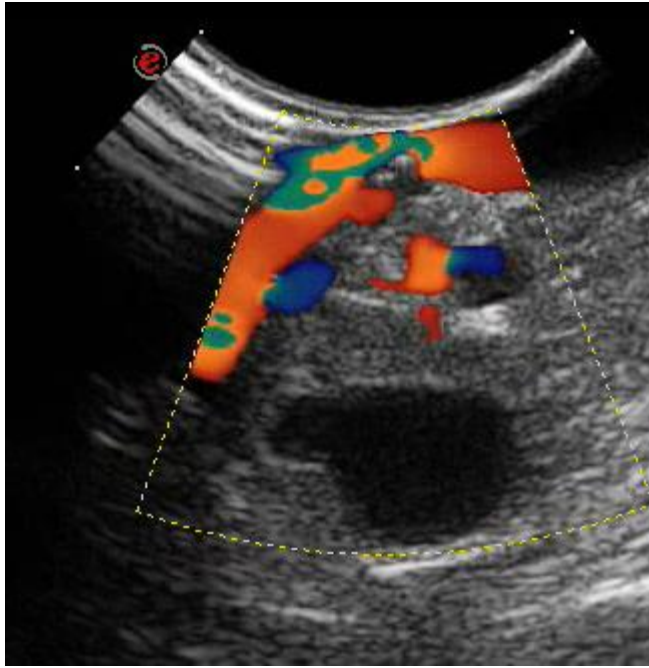


Figura 4.5 Ecografia intraepatica in cui è possibile visionare la porzione più superficiale dello shunt all'interno del parenchima epatico – Centro Veterinario Pisani-Carli-Chiodo – Per gentile concessione del Dott. Pisani

interessato dall'anomalia vascolare e si procedeva appoggiandovi la sonda ecografia rivestita da guaina sterile, con la quale si ricercava lo shunt per decretarne la precisa localizzazione e per identificarne la porzione più superficiale.

Questo permetteva di limitare il danno epatico e di ridurre i tempi e le complicazioni perioperatorie. Sulla base

delle immagini ecografiche, quindi, si dissezionava delicatamente il parenchima epatico al di sopra dell'anomalia. Alternando ecografia e dissezione, si raggiungeva lo shunt intraepatico, e si isolava per un piccolo tratto dal tessuto epatico al fine di consentire il passaggio della fascetta di cellophane. Come nella tecnica precedentemente descritta, si inseriva il cellophane attorno al vaso con l'ausilio delle pinze ad angolo retto e si procedeva alla chiusura e alla fissazione della banda con 2 emoclip. Dopo la rimozione del materiale in eccesso e l'attesa per la visualizzazione dell'insorgenza di eventuali anomalie, si richiudeva la parete addominale secondo tecnica.

RISULTATI DELLO STUDIO

I soggetti della nostra popolazione sono stati seguiti per un follow-up di 6-8 settimane e 16 settimane, nei quali sono stati rivalutati prendendo in considerazione gli acidi biliari sierici pre- e post- prandiali ed altri parametri di funzionalità epatica degli esami ematobiochimici: anemia (RBC, Hct, Hgb), albumina, enzimi epatici (ALP, AST, ALT), colesterolo, urea ed ammoniaca.

Per quanto riguarda l'evento morte, questo si è verificato:

- Precedentemente al primo follow-up in 1 soggetto (5%) con shunt portosistemico extraepatico
- Precedentemente al secondo follow-up in 1 soggetto (5%) con shunt portosistemico extraepatico

L'evento insorgenza PSS acquisiti si è verificato in 1 paziente (5%) con shunt portosistemico extraepatico. La diagnosi è stata effettuata 8 mesi dopo la prima chirurgia e quindi in un periodo successivo all'uscita del soggetto dal nostro studio. Tuttavia, al follow-up effettuato a 16 settimane presentava valori ematobiochimici all'interno dei range di normalità, ma gli acidi biliari sierici erano ancora elevati. Il paziente è stato nuovamente sottoposto ad intervento chirurgico di riduzione del nuovo shunt con tecnica del cellophane banding associato a legatura parziale con seta.

I risultati sono stati sottoposti ad elaborazione statistica con T-Test al fine di valutare le medie dei parametri presi in considerazione ed evidenziare eventuali

correlazioni statisticamente significative.

Valori medi preoperatori nei due gruppi:

	Media EXTRAEPATICI	Media INTRAEPATICI	P
RBC pre	5,32±0,76	3,69±2,12	0,001
Hct pre	29,47±9,21	23,07±11,56	0,382
Hgb pre	10,62±1,56	7,30±3,96	0,046
Albumina pre	2,18±0,51	1,62±0,51	0,924
ALP pre	544,46±208,57	744,50±136,69	0,106
AST pre	89,53±56,60	130,25±71,51	0,432
Colesterolo pre	101,00±47,31	71,00±38,54	0,866
BUN pre	9,66±4,18	8,72±4,44	0,702
NH3 pre	190,93±109,61	119,50±34,85	0,213

La tabella sovrastante evidenzia omogeneità precampionamento dei due gruppi in studio nei valori da noi presi in considerazione al momento della diagnosi, fatta eccezione per la significatività statistica rilevata nel numero dei globuli rossi e nei livelli di emoglobinemia.

Nei cani affetti da PSS extraepatico sono state riscontrate le seguenti medie:

	PRE	6-8 W	16 W
RBC (M/ μ L)	5,32 \pm 0,76	6,82 \pm 0,63	7,52 \pm 0,61
Hct (%)	29,47 \pm 9,21	36,68 \pm 4,64	36,80 \pm 3,70
Hgb (g/dL)	10,62 \pm 1,56	12,96 \pm 1,44	12,83 \pm 1,30
Albumina (g/dL)	2,21 \pm 0,51	2,86 \pm 0,41	3,33 \pm 0,25
ALP (U/L)	544,46 \pm 208,57	500,46 \pm 134,77	445,53 \pm 74,76
AST (U/L)	89,53 \pm 56,61	52,20 \pm 19,43	29,69 \pm 4,2
ALT (U/L)	161,78 \pm 107,79	79,53 \pm 42,52	55,23 \pm 6,95
Colesterolo (mg/dL)	101,00 \pm 47,31	163,06 \pm 68,92	169,23 \pm 47,11
BUN (mg/dL)	9,66 \pm 4,1	14,53 \pm 2,89	20,69 \pm 3,96
NH3 (mcg/dL)	198,78 \pm 109,28	73,14 \pm 28,01	52,92 \pm 14,11

Nella tabella vengono evidenziati in blu i miglioramenti dei vari parametri statisticamente significativi ($p < 0,05$) tra i valori pre chirurgia e 6-8 settimane dopo l'attenuazione dello shunt con banda di cellophane. In rosso, vengono invece messi in evidenza i miglioramenti statisticamente significativi nel periodo compreso tra le 6-8 settimane post-chirurgia e l'ultimo follow-up effettuato a 16 settimane.

I cani che presentavano shunt portosistemico intraepatico mostravano invece i

seguenti valori medi:

	PRE	6-8 W	16 W
RBC (M/ μ L)	2,95 \pm 1,87	5,45 \pm 0,56	6,87 \pm 0,52
Hct (%)	23,07 \pm 11,56	23,86 \pm 11,49	32,07 \pm 1,71
Hgb (g/dL)	7,30 \pm 3,96	15,60 \pm 11,28	11,37 \pm 1,83
Albumina (g/dL)	1,6 \pm 0,51	2,00 \pm 0,57	2,97 \pm 0,40
ALP (U/L)	744,50 \pm 136,69	742,75 \pm 94,83	585,75 \pm 108,90
AST (U/L)	130,25 \pm 71,51	57,10 \pm 16,53	38,75 \pm 13,96
ALT (U/L)	171,75 \pm 87,92	72,50 \pm 28,47	57,00 \pm 19,68
Colesterolo (mg/dL)	71,00 \pm 38,54	143,50 \pm 99,88	189,75 \pm 46,62
BUN (mg/dL)	8,72 \pm 4,44	14,75 \pm 3,59	20,75 \pm 5,56
NH3 (mcg/dL)	119,50 \pm 34,85	113,50 \pm 34,53	60,75 \pm 23,01

Dalla tabella si evidenzia che nel follow up a 6-8 settimane solo l'urea risulta statisticamente significativa ($p < 0,05$) nel suo miglioramento nel post-chirurgia. In verde sono invece segnalati i parametri statisticamente significativi considerando il periodo compreso tra il prechirurgia e il secondo follow up a 16 settimane.

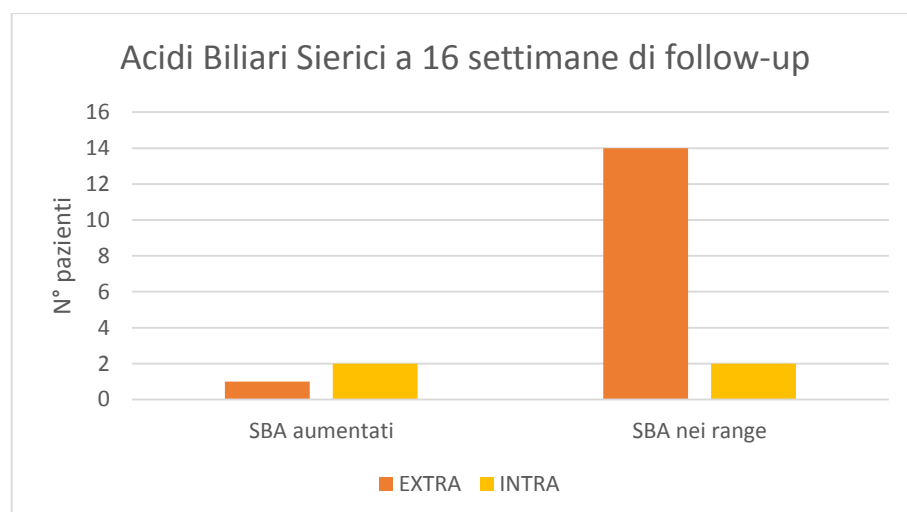
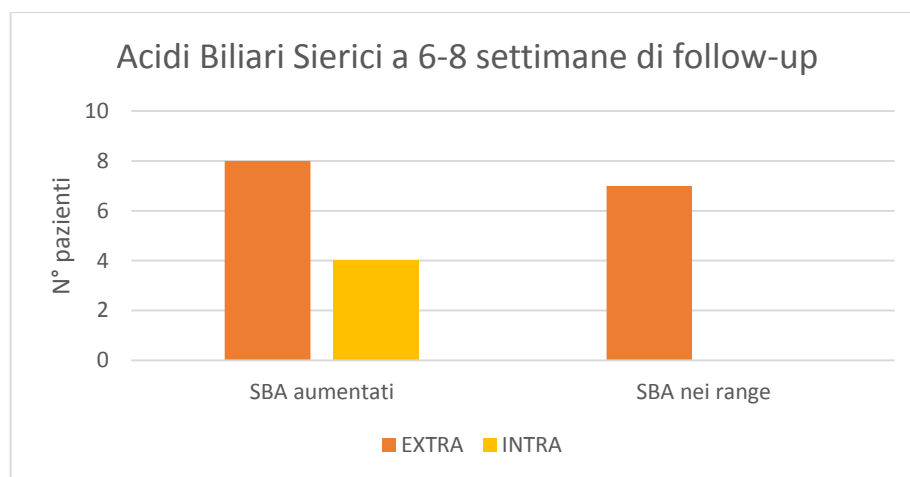
Per quanto riguarda i livelli sierici degli acidi biliari, sono stati sottoposti a indagine statistica con il Test Esatto di Fisher. Questo ha evidenziato l'assenza di differenze nei due gruppi prima della chirurgia, in quanto nel 100% dei soggetti si presentavano elevati.

Al follow-up di 6-8 settimane 8 soggetti con shunt extraepatico su 15 (53%) presentava ancora un valore al di sopra dei range di normalità, tra gli intraepatici questa anomalia era ancora esistente nel 100% dei pazienti. Tuttavia non è stata evidenziata una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p > 0,05$).

Al successivo controllo 4 mesi post-intervento, in un solo soggetto su 14 (7%) tra i

cani affetti da shunt extraepatico i livelli sierici di acidi biliari continuavano a risultare elevati; in 2 su 4 (50%) negli intraepatici. Anche in questo caso non è stata rilevata alcuna differenza di significatività statistica.

Confrontando i valori pre- e post-chirurgia all'ultimo follow-up di entrambi i gruppi si è evidenziata una $p=0,97$, che ha permesso di valutare le differenze tra pazienti affetti da shunt extra- ed intra-epatico come tendenzialmente significative e che quindi, orientativamente gli acidi biliari sierici tendono a migliorare maggiormente nei soggetti del gruppo shunt extraepatico.



Dal punto di vista della diagnostica per immagini, purtroppo la verifica in tutti i

soggetti della popolazione riguardo all'effettiva oblitterazione totale del vaso è risultata impraticabile per motivi legati all'impossibilità dei proprietari di sostenere ulteriori spese.

Abbiamo tuttavia avuto la possibilità di eseguire un angioTC di controllo in uno dei soggetti con patologia intraepatica che al follow-up di 4 mesi mostrava ancora acidi biliari elevati e, in quel caso, lo shunt si era solamente ridotto di dimensioni (da 10mm a 7mm). La scomparsa della sintomatologia era quindi da riferire anche alla terapia medica post-chirurgia e alla somministrazione di una dieta proteino-restrittiva, che insieme contribuivano a ridurre i livelli di ammoniaca nel sangue.

In altri soggetti 5 (33%) appartenenti al gruppo PSS extraepatici è stato invece possibile effettuare delle ecografie di controllo, durante le quali era possibile



Figura 4.6 Controllo ecografico postoperatorio. Nell'ovale è possibile visualizzare due linee parallele iperecogene riconducibili alla presenza della banda di cellophane. Il vaso non è ancora totalmente occluso – Ospedale Didattico Veterinario „Mario Modenato dell'Università di Pisa – Per gentile concessione del Dott. Mannucci

visualizzare il cellophane attorno allo shunt. Di questi, in un solo soggetto (20%) era possibile constatare solo una parziale occlusione del lume vasale, dato in linea con quanto riportato da Mehl ML et al. nel 2005, secondo cui l'evento assenza di chiusura completa si verifica nel 18-21% dei cani sottoposti ad intervento con tecnica del cellophane banding.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI

La nostra popolazione si compone di soggetti affetti da shunt congenito portosistemico, extra- o intra-epatico.

Al termine del nostro studio (follow-up a 16 settimane) abbiamo riscontrato che 2 dei soggetti (10%) era deceduto, uno per cause legate all'ipertensione portale acuta instauratasi dopo la chirurgia, l'altro per avvelenamento da rodenticida (dicumarolico) nel periodo tra il primo e il secondo controllo.

Per quanto riguarda gli shunt extraepatici abbiamo riscontrato una mortalità del 5%, risultato in linea con i dati riportati in letteratura, secondo i quali il tasso di mortalità dei cani con PSS extraepatico è del 6-9% (Lee KCL et al., 2006). Come evidenziato da un recente lavoro di Hunt GB et al., la percentuale di decessi relativa ai cani trattati con banda di cellophane intraepatica è del 27%, in netto contrasto col nostro lavoro, nel quale non si sono riscontrati decessi.

Bisogna altresì sottolineare l'esiguità del nostro campione, in cui solo 4 pazienti erano affetti da PSS intraepatico.

Interessante, inoltre, si è rilevato il ritardo nel miglioramento del profilo ematobiochimico dopo chirurgia osservato nei pazienti con shunt portosistemico intraepatico. La significatività statistica dell'outcome si raggiunge solo alla sedicesima settimana di follow-up e non a 6-8 settimane. Verosimilmente tale dato correla con la maggiore invasività dell'intervento chirurgico in questo gruppo di pazienti, e con le maggiori dimensioni del vaso di shunt.

Anche la valutazione degli acidi biliari sierici ci ha permesso di constatare un più rapido miglioramento all'interno del gruppo di cani affetti da patologia portosistemica extraepatica.

Risulta dunque necessario riferire al proprietario che presenta il proprio cane alla visita, che esistono tempi di ripresa differenti nel caso in cui ci si trovi di fronte ad

uno shunt extra- o intra-epatico. Deve essere inoltre informato del fatto i controlli post-operatori risultano fondamentali, al fine di valutare il profilo ematochimico e i livelli degli acidi biliari. Questi, infatti possono costituire un fattore prognostico ed utile nella diagnosi dell'apertura di un nuovo shunt post-chirurgia quando non si registra un sensibile abbassamento degli stessi. La variabile nuovo shunt, inoltre non risulta essere prevedibile ed il proprietario deve esserne consapevole.

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

Negli ultimi decenni lo shunt portosistemico ha destato sempre più curiosità all'interno della comunità scientifica veterinaria e ne è a testimonianza il notevole progresso delle metodiche chirurgiche impiegate nel suo trattamento a cui abbiamo assistito nel corso degli anni.

Buona parte dei ritrovati terapeutici impiegati correntemente sono stati trasposti dalla Medicina Umana, come del resto avviene in molti altri campi della Medicina Veterinaria. In questo contesto, sempre più spesso, anche in centri specializzati di altissimo livello, viene impiegata la tecnica del cellophane banding.

Il nostro lavoro non solo ha confermato, in linea con i dati presenti in letteratura, i risultati favorevoli derivanti dal trattamento chirurgico dello shunt portosistemico extraepatico con tecnica del cellophane banding, bensì ha evidenziato come tali outcome possano essere ottenuti con la stessa tecnica chirurgica anche nel trattamento di alcuni degli shunt intraepatici.

Gli ottimi risultati della chirurgia, a nostro avviso, non possono prescindere da un adeguato inquadramento del paziente e soprattutto dall'impiego delle tecniche di diagnostica per immagine preoperatorie (ecografiche ed in particolar modo tomografiche). Queste ultime hanno infatti giocato un ruolo fondamentale nella corretta individuazione del vaso anomalo all'interno del parenchima epatico e alla successiva pianificazione dell'atto chirurgico. A questo proposito altrettanto importante è stato l'utilizzo routinario dell'ecografia intraoperatoria poiché ha permesso di individuare con precisione, durante l'intervento, il punto in cui lo shunt decorre più superficialmente all'interno del lobo epatico interessato ed è quindi più facilmente aggredibile, riducendo in tal modo i tempi operatori e le complicanze perioperatorie.

Nel trattamento degli shunt intraepatici la tecnica del cellophane banding, quando tecnicamente attuabile, rappresenta quindi una valida alternativa ad altre

metodiche come ad esempio l'embolizzazione con coil trombogenici, la quale, oltre alla temuta complicità della migrazione dei device, è gravata da costi decisamente maggiori (dovuti anche all'utilizzo di strumentazione dedicata come l'intensificatore di brillanza) e richiede personale con esperienza nelle procedure di cateterismo transvenoso.

Da sottolineare è inoltre il fatto che in pazienti spesso compromessi e/o in stadi avanzati di insufficienza epatica (caratterizzati da ipoalbuminemia, anemia ipocromica normocitica, iperammoniemia, bassi livelli di urea, ipertransaminasemia ed aumento degli acidi biliari urinari e serici pre- e post-prandiali), una chirurgia che prevede la dissezione di un organo disfunzionante ed ipoplasico, come quella prevista per il trattamento degli shunt intraepatici, può portare non solo ad un evidente miglioramento clinico ma anche ad una completa restitutio ad integrum del parenchima epatico evidenziata da un profilo bioumorale di funzionalità d'organo sostanzialmente normale a circa 16 settimane di follow up.

Il non raggiungimento dell'outcome a 6-8 settimane, al contrario di quanto osservato per gli shunt extraepatici, non deve affatto sorprendere in quanto fattori quali il tipo di chirurgia più invasiva ed il calibro più grosso del vaso anomalo hanno reso evidenti i benefici dell'intervento ben oltre tale finestra temporale.

Nonostante i sorprendenti risultati ottenuti nel trattamento dello shunt portosistemico intraepatico, siamo consapevoli che l'esiguità del nostro campione (tuttavia più rappresentativo dei pochi lavori pubblicati fino ad ora) non permette di trarre definitive conclusioni in merito alla superiorità della tecnica del cellophane banding rispetto ad altre metodiche. E' nostra convinzione ed auspicio che tale ipotesi possa essere confermata nel prossimo futuro da studi di confronto che comprendano una più estesa popolazione in esame.

BIBLIOGRAFIA

- ❖ Adin CA, Sereda CW, Thompson MS, et al. Outcome associated with use of a percutaneously controlled hydraulic occluder for treatment of dogs with intrahepatic portosystemic shunts. J Am Vet Med Assoc 2006; 229: 1749-55
- ❖ Aguggini G, Beghelli V, Giulio L. Fisiologia degli Animali Domestici con elementi di Etologia. UTET 2° edizione, 2006
- ❖ Barone R. Anatomia comparata dei mammiferi domestici; Vol 4° Splacnologia. Edagricole
- ❖ Berent AC, Rondeau M. Hepatic failure. In: Silverstein DC, Hopper K, editors. Small animal critical care medicine. 1st edition. St Louis (MO): Saunders Elsevier; 2009. P. 552-8
- ❖ Besancon MF, Kyles AE, Griffey SM, et al: Evaluation of the characteristics of venous occlusion after placement of an ameroid constrictor. Vet Surg 2003; 32: 481-482
- ❖ Brent A, Weisse C. Portosystemic shunts and portal venous hypoplasia. Standards of care. Emergency and Critical Care Medicine 2007; 9(3): 1-11
- ❖ Breznock Em: Surgical manipulation of portosystemic shunts in dogs. J Am Vet Med Assoc 1979; 174: 819-825
- ❖ Bright SR, Williams JM, Niles JD. Outcomes of intrahepatic portosystemic shunts occluded with ameroid constrictors in nine dogs and one cat. Vet Surg 2006; 35: 300-9

- ❖ Broome CJ, Walsh VP, Braddock JA. Congenital portosystemic shunts in dogs and cats. N Z Vet J 2004; 52(4): 154-62
- ❖ Bufalari A, Lachin A et al., Anestesia – Cane, gatto e animali non convenzionali, 1° edizione Elsevier 2012
- ❖ Bunch SE, Jordan HL, Sellon RK, et al. Characterization of iron status in young dogs with portosystemic shunt. Am J Vet Res 1995; 56:853-8
- ❖ Bussadori R, Bussadori C, Millàn L, Costilla S, et al. Transvenous coil embolization for the treatment of single congenital portosystemic shunts in six dogs. Veterinary Journal 2008; 176: 221-226
- ❖ Center SA, Balkman CE, Randolph JF, Trainor D, Washer KL, Crawford MA. Evaluation of urine sulfated and nonsulfated bile acid as a diagnostic test for liver disease in dogs. JAVMA, Vol 222, No. 10, May 15, 2003
- ❖ Center SA, Warner KL, Erb HN. Liver glutathione concentrations in dogs and cats with naturally occurring liver disease. Am J Vet Res 2002; 63: 1187-1197
- ❖ Center SA. Nutritional support for dogs and cats with hepatobiliary disease. J Nutr 1998; 128: 2733S-2746S
- ❖ Chanoit G, Kyles AE, Weisse C, et al. Surgical and interventional radiographic treatment of dogs with hepatic arteriovenous fistulae. Vet Surg 2007; 36: 199-209
- ❖ Christiansen JS, Hottinger HA, Allen L, et al. Hepatic microvascular dysplasia in dogs: a retrospective study of 24 cases (1987-1995). J Am Vet Med Assoc 1995; 207: 1048-54

- ❖ Cole RC, Morandi F, Aveneu J et al: Trans-splenic portal scintigraphy in normal dogs, Vet Radiol Ultrasound 46: 146, 2005
- ❖ Connery NA, McAllister H, Skelly C, et al: Cellophane banding of congenital intrahepatic portosystemic shunts in two Irish wolfhounds. J Small Anim Pract 2002; 43: 345-349
- ❖ Daniel GB, Bright R, Monnet E, et al. Comparison of per-rectal portal scintigraphy using 99m technetium pertechnetate to mesenteric injection of radioactive microspheres for quantification of portosystemic shunts in an experimental dog model. Vet Radiol Ultrasound 1990; 31: 175-82
- ❖ Davidson G. S-Adenosylmethionine. Com Cont Educ 2002; 24: 600-603
- ❖ Frankel D, Seim H, MacPhail C, et al. Evaluation of cellophane banding with and without intraoperative attenuation for treatment of congenital extrahepatic portosystemic shunts in dogs. J Am Vet Med Assoc 2006; 228: 1355-60
- ❖ Gerritzen-Bruning MJ, van den Ingh TS, Rothuizen J. Diagnostic value of fasting plasma ammonia and bile acid concentrations in the identification of portosystemic shunting in dogs. J Vet Intern Med 2006; 20:13-9
- ❖ Hall EJ, German AJ. Laboratory approach to liver disease. In: Villiers E, Blackwood L – Manual of Canine and Feline Clinical Pathology – 2nd ed, BsaVa 2005

- ❖ Harari J, Lincoln J, Alexander J, Miller J. Lateral thoracotomy and cellophane banding of a congenital portoazygus shunt in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 1990; 31: 571-573
- ❖ Holford AI, Tobias KM, Bertager JW, et al. Adrenal response to adrenocorticotrophic hormone in dogs before and after surgical attenuation of a single congenital portosystemic shunt. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 832-8
- ❖ Holt DE, Washabau RJ, Djali S, et al. Cerebrospinal fluid glutamine, tryptophan, and fulminant hepatic failure. In: Guilford WG, et al., editors. *Strombeck's small animal gastroenterology* 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1996. P. 654-704
- ❖ Hunt GB, Kummeling A, Tisdall PLC, et al: Outcomes of cellophane banding for congenital portosystemic shunts in 106 dogs and 5 cats. *Vet Surg* 2004; 33: 25-31
- ❖ Hunt GB, Tisdall PLC, Webb A, MacPherson GC, Brain P, Malik R. Congenital portosystemic shunt in toy and miniature Poodles. *Australian Veterinary Journal* 2000; 78: 530-532
- ❖ Hunt GB. Effect of breed on anatomy of portosystemic shunts resulting from congenital diseases in dogs and cats: a review of 242 cases. *Aust Vet J* 2004; 82: 746-749
- ❖ Hurn SD, Edwards GA: Perioperative outcomes after three different single extrahepatic portosystemic shunt attenuation techniques in dogs: partial ligation, complete ligation, and ameroid constrictor placement. *Aust Vet J* 2003; 81: 666-670

- ❖ Isobe K, Matsunaga S, Nakayama H. Histopathological characteristics of hepatic lipogranulomas with portosystemic shunt in dogs. J Vet Med Sci 2008; 70(2): 133-8
- ❖ Jalan R, Shawcross D, Davies N. The molecular pathogenesis of hepatic encephalopathy. Int J Biochem Cell Biol 2003; 35: 1175-1181
- ❖ Jalan R, Shawcross D, Davies N. The molecular pathogenesis of hepatic encephalopathy. Int J Biochem Cell Biol 2003; 35: 1175-81
- ❖ Johnson CA, Armstrong PJ, Hauptman JG. Congenital portosystemic shunts in dogs: 46 cases (1979- 1986) J Am Vet Med Assoc 1987; 191: 1478-83
- ❖ Jörg M. Steiner. Gastroenterologia del cane e del gatto. Elsevier, 2009
- ❖ Kerr MG, van Doorn T. Mass screening of Irish wolfhound puppies for portosystemic shunts by the dynamic bile acid test. Vet Rec 1999; 144(25): 693-6
- ❖ Krotscheck U, Adin CA, Hunt GB, et al. Epidemiologic factors associated with the anatomic location of intrahepatic portosystemic shunts in dogs. Vet Surg 2007; 36: 31-6
- ❖ Kummeling A, van Sluijs FJ, Rothuizen J. Prognostic implications of the degree of shunt narrowing and of the portal vein diameter in dogs with congenital portosystemic shunts. Vet Surg 2004; 33: 17-24

- ❖ Kyles AE, Gregory CR, Jackson J, et al: Evaluation of a portocaval venograft and ameroid ring for the occlusion of intrahepatic portocaval shunts in dogs. Vet Surg 2001; 30: 161-169
- ❖ Laflamme DP. Nutritional management of liver disease. In: Kirk's Current Veterinary Therapy XIII, Bonagura JW(ed). WB Saunders CO, Philadelphia, 1999: 693-697
- ❖ Lamb CR. Ultrasonographic diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs: results of a prospective study. Vet Radiol Ultrasound 1996; 37: 281-8
- ❖ Lee KCL, Lipscomb VJ, Lamb CR, et al. Association of portovenographic findings with outcome in dogs receiving surgical treatment for single congenital portosystemic shunts: 45 cases (2000-2004). J Am Vet Med Assoc 2006; 229: 1122-9
- ❖ Leveille R, Johnson SE, Birchard SJ: Transvenous coil embolization of portosystemic shunt in dogs. Vet Radiol Ultrasound 2003; 44: 32-36
- ❖ Maddison JE. Newest insights into hepatic encephalopathy. Eur J Comp Gastroenterol 2000; 5: 17-21
- ❖ Marcato PS. Patologia sistematica Veterinaria. Edagricole 2° edizione, 2008
- ❖ Mathew K, Grofton N. Congenital extrahepatic portosystemic shunt occlusion in the dog: gross observation during surgical correction. J Am Anim Hosp Assoc 1988; 24: 387-94
- ❖ Mathews KG, Bunch SK. Vascular liver diseases. In: Ettinger SJ, Feldman ED, editors. Textbook of veterinary internal medicine:

diseases of the dogs and cat . 6th edition. St Louis (MO): Elsevier Saunders; 2005. P. 1453-64

- ❖ Mehl ML, Kyles AE, Adin CA et al: Evaluation of ameroid ring constrictors for extrahepatic portosystemic shunts in 168 cases (1996-2001), J Am Vet Med Assoc 2005; 226: 2020
- ❖ Meyer DJ, Strombeck DR, Stone EA, et al. Ammonia tolerance test in clinically normal dogs and dogs with portosystemic shunts. J Am Vet Med Assoc 1978; 173: 377-9
- ❖ Miller NA. Laparoscopy: laparoscopic extrahepatic portosystemic shunt attenuation. In: Tams TR, Rawlings CA, editors. Small animal endoscopy. 3rd edition. St Louis (MO): Elsevier; 2011. p. 446-9
- ❖ Morandi F, Cole RC, Tobias KM et al: Use of 99mTcO₄(-) trans-splenic portal scintigraphy for diagnosis of portosystemic shunts in 28 dogs, Vet Radiol Ultrasound 46: 153, 2005
- ❖ Nelson NC, Nelson LL. Anatomy of extrahepatic portosystemic shunts in dogs as determined by computed tomography angiography. Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 52, No. 5, 2011, pp 498-506
- ❖ Papazoglou LG, Monnet E, Seim HB: Survival and prognostic indicators for dogs with intrahepatic portosystemic shunts: 32 cases (19990-2000), Vet Surg 2002; 31: 561
- ❖ Parker JS, Monnet E, Powers BE, et al. Histologic examination of hepatic biopsy sample as a prognostic indicator in dogs undergoing surgical correction of congenital portosystemic

shunts: 64 cases (1997-2005). J Am Vet Med Assoc 2008; 232: 1511-4

- ❖ Partington BP, Partington CR, Biller DS, et al: Transvenous coil embolization for treatment of patent ductus venosus in a dog. J Am Vet Med Assoc 1993; 202: 281-284
- ❖ Phillips L, Tappe J, Lyman R. Hepatic microvascular dysplasia in dogs. Prog Vet Neurol 1996; 7: 88-96
- ❖ Rothuizen J, Ingh TS. Rectal ammonia tolerance test in the evaluation of portal circulation in dogs with liver disease. Res Vet Sci 1982; 33: 22-5
- ❖ Seguin B, Tobias KM, Gavin PR et al. Use of magnetic resonance angiography for diagnosis of portosystemic shunts in dogs. Vet Radiol Ultrasound 1999; 40: 251-8
- ❖ Serada CW, Adin CA. Methods of gradual vascular occlusion and their applications in treatment of congenital portosystemic shunts in dogs: a review. Vet Surg 2005; 34: 83-91
- ❖ Simpson KW, Meyer DJ, Boswood A, et al. Iron status and erythrocyte volume in dogs with congenital portosystemic vascular anomalies. J Vet Intern Med 1997; 11: 14-9
- ❖ Smith RR, Hunt GB, Garcia-Nolen TC, et al. Spectroscopic and mechanical evaluation of thin film commonly used for banding congenital portosystemic shunts in dogs. Vet Surg 2013; 42: 478-87
- ❖ STEPHEN J Ettinger, Edward C. Feldman. Clinica medica veterinaria. Malattie del cane e del gatto. 6° edizione, Elsevier 2008

- ❖ Sterczer A, Meyer HP, Boswijk HC, et al. Evaluation of ammonia measurements in dogs with two analyser for use in veterinary practice. Vet Rec 1999; 144: 23-26
- ❖ Strombeck DR, Schaeffer ME, Roger DR. Dietary therapy for dogs with chronic hepatic insufficiency. In: Kirk's Current Veterinary Therapy VIII, Kirk RW(ed). WB Saunders CO, Philadelphia, 1983: 817-821
- ❖ Tams TR. Diseases of the liver and hepatobiliary system. In: Tams TR, editor. Handbook of small animal gastroenterology. 2nd edition. St Louis (MO): Elsevier Science; 2003. p. 330-335
- ❖ Tiemessen I, Rothuizen J, Voorhout G. Ultrasonography in the diagnosis of congenital portosystemic shunting. Compend Contin Educ Vet 2002; 24: 626-35
- ❖ Tisdall PC et al. Glomerulopathy in dogs with congenital portosystemic shunts. Aust Vet J 1997; 73: 52-54
- ❖ Tobias KM, Rohrbach BW. Proportional diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs accessed by veterinary teaching hospitals: 1980-2002. J Am Vet Med Assoc 2003; 223: 1636-9
- ❖ Tobias KM. Portosystemic shunt and other hepatic vascular anomalies. In: Slatter D, editor. Textbook of small animal surgery, 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders; 2003 p. 727-51
- ❖ Twedt DC. Nutraceuticals in liver disease. Proceedings 22nd ACVIM Forum. Minneapolis 2004; 678-680
- ❖ Vogt JC, Krahwinkel DJ, Bright RM, et al: Gradual occlusion of extrahepatic portosystemic shunts in dogs and cats using the ameroid constrictor. Vet Surg 1996; 25: 495-502

- ❖ Willard MD, Twedt DC. Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. In: Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH, editors. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 1999. p. 172-207
- ❖ Winkler JT, Bohling MW, Tillson DM et al. Portosystemic shunts: diagnosis, prognosis, and treatment of 64 cases (1993-2001). J Am Anim Hosp Assoc 2003; 39: 169-185
- ❖ Worley DR, Holt DE. Clinical outcome of congenital extrahepatic portosystemic shunt attenuation in dogs aged five years and older: 17 cases (1992-2005). J Am Vet Med Assoc 2008; 232: 722-727
- ❖ Youmans KR, Hunt GB. Cellophane banding for the gradual attenuation of single extrahepatic portosystemic shunts in eleven dogs. Australian Veterinary Journal 1998; 76: 531-537
- ❖ Youmans KR, Hunt GB: Experimental evaluation of four methods of progressive venous attenuation in dogs. Vet Surg 1999; 28: 38-47
- ❖ Zaneroli ML, Venture E, et al. Opiate receptors and beta-endorphin levels in encephalopathy. Vet Clin North Am Small Animal Pract 1995; 25(2): 337-55

Ringraziamenti

Mille volte GRAZIE al Prof. Iacopo Vannozzi, prezioso relatore ed insegnante che in questi anni da tesista mi ha saputo trasmettere passione per la medicina e la chirurgia e desiderio di conoscenza. Devo inoltre ringraziarLa per avermi permesso di “fare” e per la fiducia mostratami in diverse occasioni all’interno della sala operatoria. Grazie per tutto quello che mi ha insegnato.

Ringrazio la Dott.ssa Viola Maria Innocenti per avermi, come direbbe lei, TEMPRATA!!! Ad oggi posso dirti grazie per le volte in cui mi hai costretto a telefonare ai proprietari dei pazienti, per avermi cazziata quando ce n’era bisogno; grazie per tutto quello che mi hai insegnato, per aver compreso il mio entusiasmo e per averne mostrato altrettanto, grazie anche per le volte che mi hai sostenuta e che hai creduto in me. Te ne sarò sempre grata!

Un grande e sincero ringraziamento lo devo sicuramente al Dott. Guido Pisani che si è reso disponibile e mi ha permesso, per realizzare questo lavoro, di attingere dai suoi casi di PSS, dati, immagini e filmati. Grazie soprattutto per averlo fatto con professionalità e, contemporaneamente, con semplicità, gentilezza ed estrema pazienza.

Grazie al Dott. Tommaso Mannucci per l’aiuto che mi ha dato nell’elaborazione di questo lavoro, per ogni volta che si è prestato, con molta pazienza, a spiegarmi le immagini TC prima degli interventi chirurgici. Grazie per quando, entrando in sala, suggeristi al Prof di passarmi filo e portaaghi per farmi chiudere e grazie anche per aver

trovato il tempo per me prima dell'esame di radiologia! Grazie per aver fatto tutto questo sempre e solo col sorriso.

Grazie al Dott. Duccio Panzani per avermi pazientemente aiutata nell'elaborazione statistica dei dati sperimentali raccolti e per il supporto morale mostratomi.

Ringrazio, con molta stima e simpatia, la Dott.ssa Angela Briganti che in tutti questi anni mi ha spesso fatto sentire il suo sostegno, tra uno strillo ed un sorriso. Ho apprezzato ogni singolo gesto, ogni singola parola, ogni singolo insegnamento.

Ringrazio gli amici di sempre (in ordine alfabetico per non far torto a nessuno) Ale, Angiu e Ione che sono stati presenti in ogni occasione, importante e non, che mi hanno sempre incoraggiato prima degli esami nonostante i miei fastidiosi sbalzi d'umore! Grazie per avermi sopportata e per avermi regalato momenti unici e indimenticabili, per le belle serate, le risate e il tempo insieme...vi adoro!!! Siete fondamentali!

Ringrazio la Marty che era presente quando l'entusiasmo e la solarità che mi contraddistinguono erano svaniti, grazie davvero! Grazie per avermi ascoltata ripetere infinite volte prima degli esami (anche se ti addormentavi e mi lasciavi parlare da sola), grazie per i balletti in mezzo alla strada, con la musica a palla sotto la pioggia.

Un grande grazie lo devo sicuramente a Flavia con la quale ho condiviso gioie e dolori durante tutti questi lunghi anni universitari. Grazie per le ore di studio insieme, per i momenti di panico, ansie e sclero superati insieme, grazie per tutte le risate.

Aggiungo alla lista delle persone da ringraziare dal più profondo del cuore la pazza e fantastica Aly; con il dispiacere di averti scoperta tardi ma super felice di aver compreso la bella persona che c'è in te, piena di quell'entusiasmo da bambina simile al mio, piena di ansie come me,

con un cuore grande e sempre pronta con una parola carina e la tua presenza. Grazie per le sbronze in Vettovaglie, per i messaggini prima degli esami, per aver condiviso dispiaceri, dubbi e gioie con me!

Ringrazio Mariateresa, coinquilina speciale ma prima di tutto un'amica preziosa. Grazie del supporto, degli abbracci "immaginari", delle chiacchiere e dei momenti insieme. Grazie per avermi fatta sentire a casa e per avermi sempre offerto una spalla su cui piangere e vodka&patatine su cui ridere! Ti adoro!

Tra gli amici "pisani" voglio ringraziare anche Carlo, Mirko, Ilaria, il Della, Ele, David, Agresti e Smilardi. Ringrazio Virginia per i sorrisi e soprattutto la disperazione condivisa in questo ultimo mese, grazie per i consigli, l'aiuto e per tutto l'incoraggiamento. Grazie per esserci stata, nella speranza che continuerai ad esserci. Un altro grazie lo dedico a Albe, Barbara e Giulio che hanno reso i momenti in anestesia più piacevoli grazie alla loro simpatia e, a volte, anche grazie a piccoli consigli ed accorgimenti. Albe devo inoltre ringraziarlo per avermi sopportata nell'ultimo mese e per avermi insegnato a fare gli screenshot col pc...senza di te non sarei stata in grado di mettere le immagini nella tesi!!! In ogni caso, ringrazio tutti i colleghi che in un modo o nell'altro hanno reso più piacevole questo pezzetto di vita.

Un grazie un po' speciale va a Daniele, che da qualche mese a questa parte ha dato più senso ad ogni mia giornata. Grazie per aver pazientemente capito tutti i miei repentini e psicopatici cambi d'umore di quest'ultimo periodo, grazie per aver saputo trovare la parola giusta al momento giusto e per essere stato quella voce dolce che mi ha rimproverato sussurrandomi che, comunque sarebbe andata, tu saresti stato lì con me. Grazie per tutte le volte che dici che sono "la tua vet", per ogni volta che sei in grado di farmi sentire speciale. Grazie perché sai farmi ridere anche quando sono arrabbiata, grazie per le sorprese, per i treni presi alle 5 del mattino, per tutti i sorrisi e per la voglia di affrontare il mondo accanto a me. Grazie per

avermi stravolto la vita e per tutte le emozioni che ogni giorno mi regali...un grazie enorme, amore mio!

Un grazie infinitamente grande lo devo alla mia famiglia: alla nonna Edda e al nonno Sauro, a Matteo, a Lara, Giuseppe e alla principessa Lisa per aver sempre creduto in me e per avermi fatto sentire, soprattutto nei momenti di sconforto, che eravate/siete orgogliosi di me. Grazie per essere stati costantemente presenti anche da lontano e per avermi sempre fatto sentire il vostro amore.

Ringrazio anche la nonna Idilia e il nonno Alcide, che non ci sono più, ma che mi hanno cresciuta con un amore infinito, che mi hanno insegnato ad apprezzare le cose semplici e a non mollare mai di fronte alle difficoltà.

Infine, il ringraziamento più grande lo devo a mamma e papà. Grazie per tutti i sacrifici che, anno dopo anno, giorno dopo giorno, vi ho visto fare senza mai perdere il sorriso. Grazie per aver gioito con me di ogni mio successo e per aver avuto parole di incoraggiamento di fronte alle piccole sconfitte. Grazie per la bella famiglia che siete stati capaci di costruire e nella quale mi avete fatto crescere. Grazie per non avermi mai fatto mancare nulla e per avermi riempita d'amore! Grazie per aver permesso la realizzazione di questo sogno. Vi voglio un bene immenso!!!